



## XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría

### FERTILIDAD DE LOS TOROS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL: FACTORES DE VARIACIÓN

*Dr. Decuadro-Hansen, G. (1)*

Director Técnico IMV Technologies France. 10, Rue  
Clemenceau 61302, L'Aigle. France.  
Director Técnico Centre d'Insémination artificielle de  
L'Aigle, France.

#### RESUMEN

*La fertilidad de los reproductores destinados a un programa de inseminación artificial (IA) condiciona la producción de carne o leche, y su incidencia sobre la rentabilidad de los rodeos se acentúa cuando la situación económica del sector agropecuario decrece. Numerosos factores intervienen en los resultados de una IA. Los factores ligados a la hembra parecerían ser los más importantes, sin embargo aquellos relacionados con el macho no deben dejarse de lado ya que los mismos pueden ser eventualmente manejados por los CIA. El objetivo de este artículo es analizar los factores de variación de la fertilidad de los toros de IA relacionados con el toro, eyaculado, edad, estación del año, familia, número de espermatozoides por dosis de IA y precio de la dosis de semen, y presentar las eventuales dificultades ligadas a la correlación entre la evaluación *in vitro* del poder fecundante del semen de toro y su fertilidad real.*

#### INTRODUCCIÓN

La incorporación de un toro en un centro de inseminación artificial (CIA) se realiza fundamentalmente en función de su valor genético, considerando su ascendencia (pedigree), sus características de performance individual y su descendencia (progenie). La fertilidad de este reproductor, condición *sine qua non* para valorizar este potencial genético, es evaluada o mejor dicho estimada a nivel del CIA por medio de un examen clínico completo y por la apreciación de la calidad del semen producido. La fertilidad o poder fecundante de un reproductor no se puede estimar en forma directa; solamente es verificada una proporción limitada de funciones del animal o de sus gametos. La apreciación que realizamos es parcial, ya que su valor predictivo negativo es elevado, pero su valor predictivo positivo es bajo. Como regla general son retenidos los toritos jóvenes que presentan una buena circunferencia escrotal (CE), una concentración espermática elevada, una buena motilidad antes y después de la congelación y pocas anomalías. La concentración se encuentra correlacionada favorablemente con la motilidad masal e individual (+0,4 a +0,9) y el porcentaje de anomalías totales está ligado negativamente a la motilidad y a la concentración (13). En el toro joven también son observadas correlaciones altas entre la CE y los parámetros cuantitativos del eyaculado (concentración y número total de

espermatozoides) (8,34)

La fertilidad de los reproductores destinados a un programa de inseminación artificial (IA) condiciona la producción de carne o leche, y su incidencia sobre la rentabilidad de los rodeos se acentúa cuando la situación económica del sector agropecuario de un país decrece. La fertilidad de un toro utilizado en IA es corrientemente medida por medio de la "tasa de no retorno" (TNR). La TNR corresponde a la proporción de vacas o vaquillonas inseminadas que no son detectadas nuevamente en celo en un período de tiempo preestablecido: 28, 56, o 90 días. La TNR calculada sobre un período corto (28 días) puede estar influenciada por numerosos factores como: los aspectos de manejo del rodeo (detección de celo, decisión del ganadero con respecto al intervalo parto-IA), la fertilidad intrínseca de los reproductores (machos y hembras) y la mortalidad embrionaria precoz (19). La TNR calculada sobre un período mayor, 56 o 90 días, está a su vez influenciada por la mortalidad embrionaria tardía.

Hemos constatado desde hace un par de años una disminución de la TNR en diferentes países. La tendencia actual en Francia es de 0,5 puntos porcentuales/año. Numerosos factores intervienen en los resultados obtenidos (fertilidad) después de realizar una IA. Los factores ligados a la hembra parecerían ser los más importantes para la fertilidad del rodeo y han sido objeto de numerosas publicaciones. Sin embargo los factores ligados al macho no deben dejarse de lado ya que los mismos pueden ser eventualmente manejados por un CIA.

El objetivo de esta publicación es analizar los factores de variación de la fertilidad de los toros de IA y presentar las eventuales dificultades ligadas a la correlación entre la evaluación *in vitro* del poder fecundante del semen de toro realizado y su fertilidad real.

#### COMPONENTES DE LA FERTILIDAD

La fecundación o concepción en una IA es el resultado del depósito de los gametos masculinos en el interior del tracto genital de la hembra por medio de un vector humano. El porcentaje de concepción, que podemos llamar corrientemente fertilidad, depende por lo tanto de un componente *macho*, de un componente *hembra* y de un componente *inseminador*.

Los modelos de análisis de los datos de fertilidad de las vacas y vaquillonas permiten observar de forma precisa los efectos de los diferentes factores ligados a la hembra (número de partos, intervalo parto-IA, rodeo) y a la inseminación (CIA, inseminador, mes, día de la semana). La importancia de esos factores no será tratada aquí.

En lo que respecta al componente *macho*, si bien el efecto "toro" es fácilmente medible, el mismo incluye el poder fecundante del semen eyaculado y la técnica de procesamiento del semen (diluyente, protocolo de dilución, técnica de enfriamiento del semen diluido,



## XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría

congelación, descongelación).

El interés por esta distinción puede no ser frecuente ya que todo el eyaculado de un toro utilizado en IA es "tratado" de la misma manera y la fertilidad del producto final utilizable es lo que le interesa a los profesionales de los CIA. No obstante, es importante hacer esta diferencia cuando se realizan distintos tratamientos del semen de los toros en un CIA.

El poder fecundante del semen eyaculado así como su calidad "tecnológica" (aptitud para soportar la criopreservación) es fruto de la calidad intrínseca del esperma del toro y del efecto del medio ambiente inmediato (técnica y frecuencia de colecta, estación del año, estrés, enfermedad transitoria). Finalmente la calidad del esperma depende de la interacción de un factor propio del toro (genético) y del efecto "medio ambiente".

Todos estos componentes ligados al macho, a la hembra y al inseminador pueden realizar un efecto "aditivo" sobre la fertilidad final o bien interactuar entre sí. Así por ej. Macmillan y Watson (23) observaron una interacción entre el momento de la IA y el nivel de fertilidad de los toros. La fertilidad de 3 grupos de toros (superiores al promedio del CIA, promedio e inferiores al promedio) es diferente cuando la IA se realiza al inicio del celo (74,3%, 62,7% y 58,4%  $p < 0,01$ ), sin embargo no hay diferencias cuando la IA se realiza al final del mismo.

#### ESTIMACIÓN DE LA FERTILIDAD

La fertilidad de los toros es estimada por medio de diferentes parámetros en función de la fertilidad de las vacas y vaquillonas inseminadas con su semen. El diagnóstico de gestación por medio del dosaje de proteínas embrionarias en la sangre, como la PSPB (18), ecografía o palpación rectal permiten establecer el porcentaje de preñez en un rodeo de vacas en un momento dado. Sin embargo, otros métodos son empleados a gran escala gracias a su simplicidad y a su carácter sistemático. Los mismos se basan en el no retorno al celo de la vaca.

Las TNR precoces (24 o 28 días) sobrestiman la fertilidad, ya que aproximadamente sólo el 50% de los retornos al celo son o pueden ser observados en ese momento (21). Por otro lado una TNR tardía disminuye el interés del estimador ya que puede no evidenciar la eventual presencia de un problema. Es por esta razón que Van Doormaal (36) aconseja utilizar 56 días y Foote y Oltenuacu (15) recomiendan utilizar 59 días después de

la IA como el estimador óptimo. Es interesante recalcar que las TNR 56 o 59 días presentan una correlación alta (del orden del 96%) con la TNR 60/90 o 75 días (36) y que a su vez este tipo de TNR es suficientemente precoz para estimar la fertilidad del toro utilizado. La evolución de la TNR a partir de dosis de semen a 25, 60 y 90 días fue motivo de varios trabajos científicos. Recientemente Decuadro-Hansen y col. (10) estudiaron la evolución de la TNR en 6 toros Holstein de testaje de fertilidad desconocida en eyaculado fraccionado y diluido en dos diluyentes diferentes: Biociphos plus™ (B+) y Bioxcell™ (Bx), en 3 tasas de dilución distintas. Fueron así utilizadas tres tipos de dosis: 1) diluidas en Biociphos plus™ con 7 millones de espermatozoides totales antes de la congelación; 2) Bioxcell™ con 7 millones de espermatozoides totales antes de la congelación y 3) diluidas con Biociphos plus™ con 20 millones de espermatozoides totales antes de la congelación (grupo control). La evolución de la TNR de 25 a 90 días puede apreciarse en la tabla 1.

Es evidente que los factores de variación de la TNR a 25 y 90 días no son los mismos. La variación de la TNR a 90 días está más ligada a las características de la población de hembras utilizada que la TNR a 25 días. Esta última estaría más influenciada por los factores que pueden actuar en el momento de la IA, como el manejo (detección de celo, intervalo parto-IA), las condiciones de inseminación y el factor toro.

En otro orden de cosas Dumont P, comparo las TNR obtenidas a partir de inseminaciones realizadas con semen de 27 toros diferentes y 76 eyaculados diluidos en Bioxcell y Triladyl yema de huevo (split ejaculate) a concentraciones de 8 a 12 millones de espermatozoides por paillette y no encontró diferencia significativa en materia de TNR (lettre d'Andrologie, nº 8 UNCEIA, en prensa).

El porcentaje de parición se refiere al número de vacas y vaquillonas que fueron inseminadas y que parieron en un período compatible con la duración promedio de la gestación. El cálculo de este estimador supone el registro sistemático de los nacimientos, el cual no es realizado en forma rutinaria en todos los rodeos. Asimismo, esta estimación es demasiado tardía y no puede ser utilizada como instrumento de gestión en un CIA. Por el contrario constituye un parámetro interesante para calcular los índices genéticos de fertilidad (2).

Todos los estimadores de fertilidad obtenidos a partir de IA clásicas precisan de un número elevado de hembras para ser estadísticamente aceptables. En cada hembra,

Tabla 1. Evolución de la TNR a 25, 60 y 90 días en primo-IA (n)

	TNR 25	TNR 60	TNR 90
B+ con $7 \times 10^6$	77,88% (443)	56,76% (340)	47,43% (331)
BX con $7 \times 10^6$	81,27% (411)	61,21% (397)	52,84% (388)
	p=0,13	p=0,21	p=0,16
Promedio para toros evaluados con $20 \times 10^6$	80,37% (2028)	61,94% (1771)	54,60% (1588)

B+= Biociphos plus; BX= Bioxcell



## XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría

el resultado de fertilidad (preñez o vacuidad) sigue una ley binomial y su precisión depende del porcentaje observado y no del número de hembras. Así para una fertilidad del 50% observada sobre 100 vacas, el intervalo de confianza al 95% es de  $\pm 10$  puntos de porcentaje, mientras que sobre 1.000 hembras es solamente de 3,2 puntos de porcentaje. La base mínima de evaluación de la fertilidad de un toro debería ser por lo menos de 500 IA (17).

Otro método de estimación *in vivo* de la fertilidad que permite reducir costos es la utilización de la heterospermia. La misma consiste en inseminar una mezcla de un número similar de espermatozoides de 2 o más toros, a los efectos de clasificar los mismos en función del número de terneros obtenidos de cada toro. Los terneros obtenidos deben ser identificados fenotípicamente o de lo contrario deben usarse "marcadores genéticos" (ADN). La clasificación de fertilidad obtenida es repetible y en relación a las IA monospermicas se necesita un número menor de hembras (1). A su vez la utilización de toros poco fértiles no disminuye la tasa de concepción de las hembras y por lo tanto no existen riesgos financieros.

### INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS ESPERMATOZOIDES SOBRE LA FERTILIDAD

En razón de la complejidad del proceso de espermatogénesis es fácil imaginarse cómo los cambios que sufren los espermatozoides a nivel del núcleo y de la membrana pueden desencadenar un problema. De esta manera una anomalía del acrosoma, de la cabeza del espermatozoide o de su cola pueden detectarse rápidamente en el torito joven que ingresa en un CIA, lo cual puede determinar su eliminación de la producción de semen.

Por el contrario si la anomalía es menos evidente, como por ejemplo aquellas que alteran la membrana del espermatozoide, el torito puede ingresar en una prueba de progenie y/o utilizarse en IA si la fertilidad no es muy baja.

Las anomalías de los espermatozoides (defectos morfológicos o funcionales) pueden ser clasificadas en "compensables" y "no compensables". Esta clasificación utilizada por Saacke y col. (28) corresponde a la utilizada por Pace y col. (26) de "extrínsecas" e "intrínsecas".

Los defectos compensables son todos aquellos cuya presencia disminuye las posibilidades de fecundación, limitando por ejemplo el tránsito de los espermatozoides hacia el oviducto. La disminución de la fertilidad es desencadenada por una disminución del porcentaje de espermatozoides normales en el sitio de la fecundación. El término compensable sugiere que dicho problema puede ser "compensado" por una elevación del número de espermatozoides en la pajuela.

Por el contrario, los defectos no compensables son aquellos cuya presencia no limita el tránsito de los espermatozoides ni la probabilidad de fecundación. En este caso los espermatozoides anormales entran en competición con los normales. En sentido estricto este tipo de defectos no influyen el porcentaje de fecundación pero disminuyen el porcentaje de preñez

ya que son responsables de mortalidad embrionaria.

Entre los defectos compensables se encuentran aquellos que alteran la motilidad y la aptitud de los espermatozoides para capacitarse (reacción acrosómica); entre los no compensables están todas las anomalías de la cabeza del espermatozoide, responsables de alteraciones nucleares, como por ejemplo los cráteres o vacuolas.

Además de la probabilidad que un espermatozoide posee de fecundar un ovocito y de desarrollar el embrión normalmente, debe tenerse en cuenta el tipo de anomalía presente en el semen, la cual indica en qué grado está alterada la espermatogénesis de un toro. Por ejemplo, la presencia de "cabezas sueltas" o espermatozoides decapitados es considerada como una anomalía menos grave que la presencia de la gota proximal. Podemos pensar que un espermatozoide decapitado tiene menos posibilidades de fecundar un ovocito que un espermatozoide que tiene gota proximal. Sin embargo es universalmente admitido que la presencia de gota proximal indica una alteración grave de la espermatogénesis. Por lo tanto debe dársele más importancia a la presencia de un 20% de gota proximal que a un 20% de espermatozoides decapitados en el eyaculado destinado a la congelación.

### FACTORES DE VARIACIÓN DE LA FERTILIDAD

#### Efecto toro

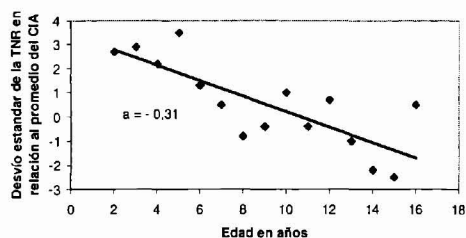
La evidencia de la existencia de un efecto toro sobre la fertilidad de las vacas es corrientemente mencionada en la literatura (14,21). Este efecto se manifiesta precozmente después de la IA, y la clasificación no varía enormemente cuando se estudian las TNR a 24 o a 90 días (19). Existe una correlación de 0,90 entre la TNR 28 y 56 (27) y de 0,96 entre la TNR 56 y la TNR 60/90 días (36).

La amplitud de esta variación entre toros es elevada cuando se consideran las IA destinadas a la prueba de progenie, ya que se suelen observar hasta 42 puntos porcentuales de diferencia en parición para una muestra de 913 toros Holstein utilizados con 300 a 700 IA (2). Los valores extremos son raros ya que para esta muestra de toros expresando la fertilidad de los mismos con respecto a su raza, 26 toros fueron estrictamente inferiores a -10, y 11 toros fueron estrictamente superiores a +6. La amplitud de estos resultados fue del orden de 3,9%, próxima a la observada por Everett y Bean (14) sobre una muestra de 4.500 toros.

Sin embargo, cuando se consideran los toros de servicio, o sea aquellos testeados que representan el 85% de las IA realizadas, las fluctuaciones son mucho más limitadas. En Francia, sobre 75 toros Holstein, Montbélaird y Normandos (+ de 20.000 IA cada uno entre los años 1996 y 1998), el porcentaje de parición expresado con respecto a un promedio varió de -8 a +4. De la misma manera, sobre los 20 toros más utilizados en Holanda, la TNR 56 varió de -5 a +2 (26). Esta amplitud menor de la TNR, se explica por el refugio de los toros de testaje de baja fertilidad y por el número elevado de IA realizadas lo cual mejora la precisión.

## XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría

### Regresión de la fertilidad de Toros Holsteins en relación a su edad



### **Efecto eyaculado**

Frecuentemente se observa en los CIA que la calidad de un eyaculado no es constante y que en determinadas ocasiones los mismos presentan una motilidad inferior o un porcentaje de anomalías mayor. Es probable que la capacidad fecundante de tal eyaculado sea baja, lo que en realidad no se sabe ya que es eliminado por el CIA. Esta práctica contribuye a uniformar la calidad de los eyaculados de un toro e indirectamente reduce la variación entre toros.

Así, Stalhammar y col. (30) estiman que si bien la motilidad antes y después de la congelación es diferente entre los toros de un CIA, la misma sólo representa 1% de la variabilidad de la TNR.

### **Efecto edad**

El efecto edad del toro en relación al poder fecundante del semen se ha estudiado muy poco en razón de la falta de trazabilidad en lo que respecta a la fecha de producción del eyaculado y la IA. Sin embargo, este factor ha sido considerado ligándolo a la hembra y al año de producción.

De esta forma, la fertilidad de un toro de 1 año puede aumentar cuando cumple 2 años, ya que se han observado 4-6 puntos más en el porcentaje de preñez y de parición en un estudio realizado con toros de monta natural sobre 748 vacas (24).

En lo que respecta a los toros viejos, los mismos presentaron una fertilidad menor como en el estudio de Murray y col. (25), en donde toros Holstein de 14 años presentaron una TNR 60/90 días inferior en 4% en relación a los toros de un año. En realidad la estimación del porcentaje de parición de los toros de prole Holstein no difiere de aquella de los toros de servicio entre 60 a 107 meses (33) y la reducción de la fertilidad comienza a observarse a partir de los 5 años de edad. Un estudio realizado sobre las razas Holstein y Guernsey mostró que la regresión de la TNR en relación a la edad de los toros fue significativa para las dos razas a partir de 2 años ( $p < 0,01$ ). Esta disminución fue de 0,31% de 2 a 16 años para los Holstein y de 0,50% para los Guernsey de 2 a 13 años (6).

### **Efecto estación del año**

En los pequeños rumiantes es común observar un factor "estacional" sobre la calidad del semen y la fertilidad.

La primavera constituye un período desfavorable para la gran mayoría de las razas ovinas, debido al aumento de la duración de los "horas luz", a la cual son sensibles carneros y machos cabríos (5,7).

En el bovino la variación estacional de la fertilidad es más discreta pero se conoce desde los años sesenta (9). La utilización de la técnica de congelación de semen en bovinos permitió distinguir la responsabilidad del macho y de la hembra en materia de estación del año, lo cual no era posible antiguamente cuando sólo se empleaba semen fresco.

Así, los trabajos de Courot y col. (9) en Francia mostraron que el semen de toros de raza Montbéliard producido en primavera fue más fecundo que aquel producido en otoño (2,4 puntos más de TNR 60/90 días). Por el contrario, Sullivan y Elliot (31) observaron una menor TNR 60/90 días (74,2%;  $P < 0,01$ ) obtenida con semen producido durante la primavera y verano, que aquella obtenida con semen producido en otoño e invierno (76,3%).

Para Everett y Bean (14) igualmente el efecto "mes" de producción del semen influyó en forma significativa sobre la fertilidad, haciendo variar el porcentaje de concepción en  $\pm 1,33\%$ . En cambio, otros estudios no han puesto en evidencia un efecto claro del mes de producción sobre la TNR 30/60 y 60/90 días (12) ni sobre el porcentaje de parición (31).

### **Efecto familia**

Una familia de toros se define como el conjunto de terneros machos nacidos del mismo padre. Si la fertilidad de los machos es "heredable", la fertilidad observada de los toros de testaje o prole debiera lógicamente ser influenciada por el padre.

Así los resultados de pariciones obtenidos a partir de inseminaciones realizadas en Francia entre 1996 y 1998 permitieron observar la fertilidad de los toros de testaje nacidos de 13 familias de 3 razas: Holstein ( $n=9$ ); Montbéliard ( $n=3$ ) y Normando ( $n=1$ ). Cada una de las familias estaba constituida por no menos de 40 toritos, los cuales realizaron 300 IA entre los años 96-98. Entre los fenómenos observados entre esas familias llamó la atención los resultados obtenidos en 3 familias que proporcionaron sistemáticamente una tasa de parición menor al promedio de las mismas y más variable.

### **Efecto número de espermatozoides por dosis de IA**

Uno de los conceptos principales con respecto a la evaluación de la fertilidad de los toros es la relación entre la calidad y cantidad de espermatozoides. Dentro de este concepto propuesto por Salisbury en 1961 (29) se considera que para una característica dada del semen, la fertilidad aumenta en función del incremento de la misma hasta un valor máximo a partir del cual los factores limitantes son otras características del semen o la población de hembras.

Esta "característica" puede ser: 1) un factor cualitativo del eyaculado (motilidad, proteínas del plasma seminal, etc), 2) el número de espermatozoides inseminados, o 3) o el número de espermatozoides con una característica particular. Pace y col. (26), así como Den



## XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría

Das (11) demostraron que esta relación con la fertilidad existe realmente para el número de espermatozoides que posean una serie de criterios de viabilidad. Es decir que el número de espermatozoides inseminados (y no el porcentaje) que presentan ciertos parámetros de viabilidad (motilidad progresiva, integridad del acrosoma, aptitud a reaccionar al test de resistencia osmótica, aptitud a atravesar un filtro de Sephadex, etc) está correlacionado con la fertilidad. Esta relación es de tipo curva exponencial que tiende a una asíntota (Figura 1). En lo que respecta al número de espermatozoides con motilidad progresiva, Pace y col. (26) informaron que la TNR 90 días disminuyó en 4,9% cuando el número de espermatozoides móviles después de la descongelación pasó de 8 a 2 millones por dosis.

En otro estudio, Foote y Parks (16) remarcaron que la fertilidad disminuyó un 1% ( $p < 0,05$ ) cuando el número de espermatozoides totales pasó de 24 a 12 millones. Sin embargo este efecto de la disminución eventual de la fertilidad en función del número de espermatozoides no se observa sobre todos los toros.

Por otro lado es importante señalar que los toros catalogados como "poco fértiles" no podrán alcanzar una fertilidad correcta o comercialmente aceptable, a pesar de utilizar dosis de semen altamente concentradas en espermatozoides (32).

Januskauskas y col. (22) compararon los resultados de fertilidad obtenidos con 5 toros que fueron utilizados en IA con una concentración de entre 10 y 15 millones de espermatozoides por dosis. Dos toros mantuvieron su fertilidad mientras que los otros tres perdieron 3,4 a 4,7% de TNR 56 días. Es interesante resaltar que el toro que más perdió en resultados de fertilidad era menos fértil aún con 15 millones de espermatozoides.

En regla general los toros poco fértiles requieren más espermatozoides por dosis para alcanzar su valor máximo de TNR (31). A su vez este tipo de toros no alcanzan a tener una TNR dentro de lo que puede considerarse como aceptable a pesar de aumentar la concentración de espermatozoides en la pajuela. Estas dos nociones: 1) aumento más lento de la fertilidad en función del número de espermatozoides inseminados y 2) un máximo de fertilidad alcanzado menor al resto de los toros del CIA nos hace recordar los principios mencionados al principio como factores compensables y no compensables. Como lo muestra la Figura 1, el toro A es de referencia, el toro B presenta una deficiencia que puede ser compensada aumentando la concentración

de espermatozoides en las pajuelas y el toro C presenta factores no compensables que no le permiten alcanzar una TNR aceptable.

### Precio de la dosis de semen

El precio de venta de la dosis de semen es un factor que el CIA debe tener en cuenta cuando analiza la fertilidad de un toro. Así por ejemplo en Canadá, Van Doormaal, (36) encontró que las dosis de menos de 15 dólares canadienses presentaban una "fertilidad" superior a aquellas más caras. En efecto, los productores utilizan estas dosis más caras sobre vacas de alta calidad genética y por ende con una producción lechera mayor, lo cual castiga la fertilidad de las dosis utilizadas. Así un aumento de la producción de leche de +1.000 Kg determinó una disminución de 3% en la TNR 28 días y de 4% en la TNR 90 días (17).

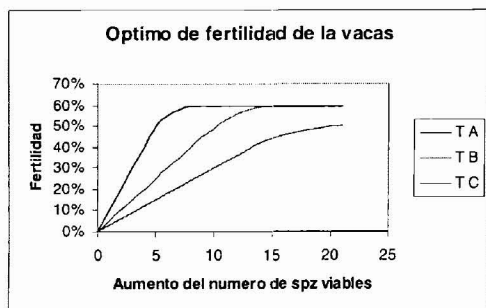
### Comparación entre diluyentes

Cuando se comparan 2 o más diluyentes, a los efectos de disminuir los factores que influyen la fertilidad, debiera utilizarse sistemáticamente la técnica del "eyaculado fraccionado" en uno o mejor varios CIA. Esto permite comparar diluyentes reduciendo los factores que eventualmente pueden influenciar la prueba, como ser: el CIA, el tratamiento del semen (protocolo de dilución, enfriamiento y envasado), el factor toro y el factor eyaculado.

No obstante, persistirán algunos parámetros o interacciones que pueden favorecer un diluyente en relación a otro, como por ejemplo, la "velocidad del enfriado del semen" de +32-34°C a +2-4°C, el número de espermatozoides totales o con motilidad progresiva utilizados que pueden "esconder" las diferencias o la "preferencia" que un semen puede tener con un diluyente en relación a otro. Así por ejemplo si comparamos 2 diluyentes entre sí en condiciones de campo, sería interesante disminuir la concentración de espermatozoides por dosis, a los efectos de detectar diferencias significativas en materia de TNR entre diluyentes.

Es altamente posible que algunos toros "prefieran" un diluyente en particular con respecto a otro.

En las condiciones de América Latina se podría prever realizar esta comparación en pajuelas 0,5 ml conteniendo entre 12 a 15 millones de espermatozoides totales/ IA.



**Figura 1.** Correlación entre fertilidad y el número de espermatozoides inseminados, en 3 toros diferentes, A, B y C (TA, TB y TC).

### Elección de un número de espermatozoides / dosis

Con motivo de simplificar el trabajo, la mayoría de los CIA utilizan un objetivo común para todos los toros, que se expresa en el número de espermatozoides por dosis o número de espermatozoides con motilidad progresiva por dosis.

La existencia de numerosas fuentes de variación de fertilidad (toro, eyaculado, estación del año, número de espermatozoides, IA, hembra) impone al CIA escoger un número de espermatozoides por dosis bastante elevado, lo cual asegura un cierto margen de seguridad. Esto justifica el empleo de cantidades altas de



## XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría

espermatozoides por dosis en los toros de razas lecheras (aproximadamente de 20 millones), lo cual, según el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva obtenido después de la descongelación (por ejemplo 30 a 50%), permite disponer de entre 6 a 10 millones de espermatozoides con motilidad progresiva por dosis para la gran mayoría de los eyaculados. La TNR 90 días promedio que se puede esperar según la fórmula de Pace y col. (26) sería de 70,4 y 71,4% respectivamente.

### ***Relación entre la evaluación in vitro y la fertilidad***

La evaluación de un reproductor al ingreso en un CIA consiste en un examen clínico completo, con especial atención al tracto genital y al aparato locomotor, una serie de exámenes complementarios destinados al control sanitario (serológicos, control de enfermedades venéreas, Schalm test, etc.), y un examen minucioso de las características del eyaculado: volumen, concentración, motilidad, examen de las anomalías morfológicas de los espermatozoides (mínimo 3 sobre los segundos eyaculados), y evaluación de la aptitud a la congelación (motilidad, acrosomas, integridad de la membrana). Luego de esta evaluación del potencial reproductor del toro, los animales son generalmente clasificados en aceptables, inaceptables o regulares. Generalmente los animales clasificados como "aceptables" y "regulares" ingresan dentro del esquema de producción de semen, sabiendo que los segundos sufrirán un examen complementario. Los animales "infértiles" son generalmente eliminados dentro de este esquema, sin embargo debemos tener siempre presente que es "riesgoso" querer clasificar los animales únicamente sobre la base de las apreciaciones *in vitro*. Como sabemos, existen diferencias importantes entre CIA y laboratorios en lo que se refiere a los criterios de eliminación de los eyaculados y pajuelas de un toro lo cual demuestra la falta de armonización así como la subjetividad e imprecisión de los criterios generalmente retenidos (motilidad) para calificar un reproductor. Efectivamente como vimos, los factores que influyen la fertilidad son numerosos e interactúan entre sí. La evaluación *in vitro* es delicada ya que los coeficientes de correlación entre la misma y la fertilidad *in vivo* raramente sobrepasan a 0,4. Esto se debe a la poca variabilidad existente entre los toros utilizados en IA (los cuales son seleccionados por este carácter), a la concentración elevada de espermatozoides por dosis y

a los numerosos cofactores que influyen la fertilidad. *Como regla general no existe correlación alta entre los test de evaluación in vitro del semen y la fertilidad.*

Sin embargo una correlación importante, próxima de uno ( $r=0.99$ ), fue hallada por Christensen y coll. entre la viabilidad del semen evaluada por citometría de flujo y la fertilidad (4). Dentro de los parámetros seminales que podrían considerarse como altamente correlacionados con la TNR se encuentran: la motilidad individual de los espermatozoides en el eyaculado fresco inmediatamente después de colectado y la motilidad inmediata al descongelado (3).

El criterio de fertilidad que debemos privilegiar es la tasa de parición o en su defecto una TNR tardía.

Problemas prácticos en la evaluación de la fertilidad

Si suponemos que todos los aspectos ligados a la hembra y a la IA son correctamente controlados, la fertilidad de los toros de IA no caracteriza el poder fecundante del reproductor sino el poder fecundante de la dosis de semen utilizada. Sin embargo muchos factores pueden confundirnos en la apreciación de la fertilidad de un toro, sobretodo si consideramos a partir de qué elementos vamos a calcular el poder fecundante (Tabla 2).

Por ejemplo, si se quiere estimar el poder fecundante a partir de las pajuelas utilizadas, la fertilidad del macho observada permite, en la medida que el semen sea de buena calidad y el número de IA importante, obtener una buena estimación poco influenciada por el factor inseminador y por la hembra.

## CONCLUSIÓN

Cuando se analiza la fertilidad de un toro a nivel de campo se pone en evidencia un conjunto de factores ajenos al toro mismo.

Sin embargo para un CIA con un número importante de toros en producción y practicando el mismo manejo de los eyaculados (dilución, enfriamiento, equilibración y congelación), es posible identificar que el factor "toro" pesa de forma preponderante en el resultado final obtenido (TNR).

La observación de este efecto macho, autoriza a pensar que quizás en un futuro próximo se pueda contribuir a mejorar la fertilidad de los rodeos por medio de una selección activa sobre los factores que mejoran este carácter en el macho. En este sentido sería muy importante que los CIA vigilaran este aspecto (fertilidad

**Tabla 2 :** Factores a tener en cuenta cuando se quiere estimar la fertilidad de los toros

	<i>Elementos a partir de los cuales estimar el poder fecundante</i>	<i>Factores que pueden confundirnos en la estimación de la fertilidad</i>
1	Dosis de semen	Interacción poder fecundante/inseminación/poder fecundante de la hembra
2	Eyaculado	Idem 1+ tratamiento del semen
3	Toro	Idem 2+medio ambiente
4	Valor genético del toro	Idem 3+ edad + medio ambiente



## XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría

de los toros) que ellos emplean sobretodo debido a la difusión masiva de los mismos en los rodeos comerciales.

Un mejoramiento pragmático de la fertilidad y la difusión de un toro en IA reposa sobre un estudio "individual" de cada toro en relación al número de espermatozoides inseminados y la fertilidad.

### BIBLIOGRAFIA

1. Beatty, R. A. ; Bennett, G.H.; Hall, J.G.; Hancock, J.L. and Stewart, B.L. 1969. An experiment with heterospermic insemination in cattle. *J. Reprod. Fert.*; 19:491.
2. Boichard, D.; Barbat, A. and Briand, M. 1998. Evaluation génétique des Caractères de fertilité femelle chez les bovins laitiers. 5èmes Renc. Rech. Rum. , Paris 2-3/12/1998, sous presse.
3. Christensen P, Brockhoff PB, Lehn-Jensen H 1999. In : The relationship between semen quality and the nonreturn rate of bulls. *Reprod. Dom. Anim.* 34,503-507.
4. Christensen P, Jensen J, Stevang JP, Pedersen KM, Guo Z, Godfrey W, Korsgaard IR, Lehn-Jensen H. In: The relationship between assessment of semen quality by flow cytometry and bull fertility. 4th Annual conference of the ESDAR, Prague, 23-25th November 2000; P.10
5. Colas, G. ; Menissier, F. ; Courot, M. and Paquignon, M. 1983. Technologie de l'insemination artificielle et fertilité du mâle. Les Colloques de l'INRA, n° 29 p.53-75. Colloques de " l'Insemination Artificielle et amélioration génétique" : bilan et perspectives critiques, Toulouse-Auzeville (France), 23-24 novembre 1983.
6. Collins, W. E. ; Inskoop, E.K.; Dreher, W.H.; Tyler, W.J. and Casida, L.E. 1962. Effect of age on fertility of bulls in artificial insemination. *J. Dairy Sci.*, 45:1015-1018.
7. Corteel, J.M.; Baril, G. and Leboeuf, B. 1980. Seasonal variation in the fertilizing capacity of washed deep frozen goat semen. " 9th International Cong. Anim. Reprod. & A.I.", Vol II, p 396 ( abstract), Madrid.
8. Coulter G.H, Mapletof R.J, Kozub G.C, Cates W.F. 1987 Scrotal circumference of 2 years old bulls of several breeds. *Theriogenology*, 27(3): 485
9. Courot, J.M.; Goffaux, M. and Ortavant, R.. 1968. Analyses des variations saisonnières de la fertilité des bovins dans le Jura français. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 8 (2): 209-216.
10. Decuadro-Hansen, G., Camus, A., Delhomme, G., Dumont, P., Marquant-Le Guenne M. , Rouxel, M. and Lebreton, M.. 2000. Can good fertility be achieved with low concentration bull sperm frozen with egg yolk free extender?. ICAR 2000, Stockholm, Sweden 2-6 July 2000 Abstract 2, pagina 82, poster 15-8.
11. Den Daas, N. 1992. Laboratory assessment of semen characteristics. - In: *Anim. Reprod. Sci.*; 28:87.
12. Dimitripoulos, E. 1968. Variations saisonnières de la fécondité chez les bovins. Degré de responsabilité du facteur male et du facteur femelle dans l'évolution cyclique du processus de la fertilité. "6ème Cong. Inter. Reprod. Anim. Insem. Art.", Vol I, p 265-267, Paris.
13. Dumont, P. 1998. Appréciation de la précocité sexuelle du taureau et intérêt pour la reproduction en monte naturelle ou en insemination artificielle.- *Elev. et Insém.* N° 283, Février 1998: 3-24.
14. Everett, R.W. and Bean, B. 1986. Semen fertility - An evaluation system for Artificial Insemination sires, technicians, herds and systematic fixed effects. *J. Dairy Sci.*, 69: 1630-1641.
15. Foote, R.H. and Oltanacu, E.A.B. 1980. Increasing fertility in artificial insemination by culling bulls or ejaculates within bulls. "Proc. Od the 8th Tech. Conf. Art.Ins. Reprod. » N.A.A.B. ; 2-3 mai, p 6-12, Missouri.
16. Foote, R.H. and Parks, J.E. 1993. Factors affecting preservation and fertility of bull Sperm: a brief review. - *Reprod. Fertil. Dev.*; 5: 665-673.
17. Haferstroh R, Seegers H, Gerard O, Beaudreau F, Menjon P. Taux de non retour des taureaux d'insemination artificielle: facteurs de variation liés à l'utilisation des taureaux et aux caractéristiques des femelles-support. *Elev. et Insém.* 291, Juin 1999 pages: 3-16
18. Humblot, P. 1991. - Signaux embryonnaires et contrôle de la gestation des ruminants. *Rec. Med. Vet.* ; 167 (3/4) : 193-202 .
19. Humblot, P. 1986. La mortalité embryonnaire chez les bovins. In : « Colloque de La Société française pour l'Etude de la Fertilité », Recherches récentes sur l'épidémiologie de la fertilité. - pp. 213-246.
20. Humblot, P. and Thibier, M. 1981. Utilisation de schémas thérapeutiques dans un programme de contrôle de l'infécondité dans un troupeau de vaches laitières. *Rec. Med. Vet.*, 157: 91-104.
21. Humblot, P., Decoux, G. and Dhornet, T. 1991. Effects of the sire and district of AI on cow fertility. *Reprod. Dom. Anim.*, 26: 225-234.
22. Januskaukas, A.; Soderquist, L.; Haard, M.G.; Haard, M.CH.; Lundeheim, N. and Rodriguez-Martinez, H. - 1996. Influence of sperm number per straw on the post-thaw sperm viability and fertility on Swedish Red and White AI bulls. *Acta Vet. Scand.*; 37: 461-470.
23. Macmillan, K.L. and Watson, J.D. 1975. Fertility differences between groups of sires relative to the stage of oestrous at the time of insemination. *Anim. Prod.*, 21: 243 ( abstract).
24. Makarechian, M. and Arthur, P.F. 1993. A comparison of natural service fertility of yearling and two year old bulls on pasture. *Theriogenology*, 39 (4): 835-845.
25. Murray B.B, Schaeffer L.R, Burnside E.B - 1983 Heritability of non-return rate of Canadian holstein friesian bulls. In : *Can.J. Anim. Sci.*, 63:39
26. Pace, M.M.; Sullivan, J.J.; Elliot, F.I.; Graham, E.F. and Coulter, G.H. 1981. Effects of thawing temperature, number of spermatozoa and spermatozoal quality on fertility of bovine spermatozoa packaged in 5 ml French straws. *J. Anim. Sci.*, 53 (3) : 693-701.
27. Reurink, A., Den Daas, J.H.G and Willmink, J.B.M. 1990. Effects of AI sires and Technician on non-return rates in the Netherlands. *Livestock Prod. Sc.*, 26 : 107-118.
28. Saacke, R.G., Nador, S., Dalton, J., Bame, J., Dejarnette, J.M., Degelos, S. and Nebel, R.L. 1994. Accessory sperm evaluation and bull fertility - An update.- *Proc. Of the 15th Tech. Conf. Art. Ins. Reprod.* " N.A.A.B., 22-23 avril , p 57-67, Wisconsin.
29. Salisbury, G.W. and Vandemark, D.L. - 1961. In: " Physiology of Reproduction and artificial insemination of cattle", p 361, Freeman W.H. and Co., San Francisco, London.
30. Stalhammar, E.M., Janson, L. and Philipsson, J. 1994 . The impact of sperm motility on non-return rate in preselected dairy bulls. - In: *Reprod. Nutr. Dev.*, 34 : 37-45.
31. Sullivan, J.J. and Elliot, F.I. 1968. Season and fertility in artificial insemination. In: " 6ème Cong. Inter. Reprod. Anim. Insem. Art." Vol I, p 329-332, Paris.
32. Sullivan, J.J. 1977. Sperm numbers required for optimum breeding efficiency in cattle. "Proc. Of the 3rd Tech. Conf. Art. Ins. Reprod. " N.A.A.B., p 36.
33. Taylor, J.F.; Everett, R.W. and Bean, B. 1985. Systematic environmental, direct, and service sire effects on conception rate in artificially inseminated holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 68: 3004-3022.
34. Thibier M, Colchen-Bourlaud M.A, Florin B, Baud C.- 1972 Le choix du jeune taurillon sur sa fonction sexuelle. *Elevage et Insemination* 127: 3-44.
35. Van Doormaal, B.J. 1993. Linear model evaluation of non-return rates for dairy and beef bulls in Canadian AI. *Can. Anim. Sci.*, 73: 795-804.
36. Van Doormaal, B.J. 1998 Review of the Canadian Non-return rate system. *Proc. Of the 17th Conf. On Art.Ins.&Reproduction. NAAB* September 25-26 1998:14-17.