

La preservación de semen de carnero en forma líquida y su potencial de uso en los servicios de nuestras majadas

NOTA TÉCNICA

Julio Olivera Muzante*, Jorge Gil Laureiro**, Sergio Fierro Fernandez***

INTRODUCCIÓN

El progreso genético a alcanzar en un programa de mejora ovina está ligado a la correcta identificación de carneros padres mejoradores y a la disminución del intervalo generacional entre ellos y sus hijos en las majadas comerciales.

Las tecnologías disponibles para favorecer el desarrollo de estos programas de mejora tienen por base a la inseminación artificial (IA), la que sin duda tiene relación directa con el desarrollo de las técnicas de preservación del semen. La preservación de semen favorecería un uso más eficiente y prolongado de los carneros de referencia que conectan majadas, al permitir que éstos sean utilizados intensamente durante y fuera de la estación reproductiva. Los carneros involucrados en estos programas pasan, generalmente, por períodos de intensa actividad, soportando condiciones de estrés (transporte, cambios de ambiente y de alimentación, etc.), que en muchas ocasiones se tornan perjudiciales para la calidad seminal. Estos traslados son también un riesgo físico y sanitario para el reproductor, además del riesgo sanitario implícito en el movimiento de animales entre predios (transmisión de enfermedades infecciosas, por ejemplo *foot rot*).

La tecnología disponible para evitar esos movimientos de carneros se basa en la preservación del semen por períodos breves (semen preservado líquido), o por períodos más largos (semen congelado). La difusión de genes mediante el uso de semen preservado tiene, en la inseminación intrauterina, una técnica cuyo uso está limitado por costos y practicidad de implementación, a los planteles de elite y a

predios que reúnen determinadas condiciones de infraestructura. La vía cervical es por ello, la forma más sencilla y natural de poder difundir el uso del semen preservado en las majadas comerciales. Sin embargo, los resultados de fertilidad alcanzados con semen congelado utilizando esta vía distan aun de ser los logrados por la vía intrauterina.

El uso del semen preservado líquido vía inseminación cervical ha sido implementado en el mundo con resultados variables, y con la constante de una disminución de la fertilidad en proporción al tiempo y condiciones de preservación. Esto se debería a que los espermatozoides experimentan cambios que determinan una menor vida media en el tracto reproductivo de la hembra (Gillan *et al.*; 2004). La preservación de semen puede ser realizada a temperatura ambiente (15-18°C, semen "enfriado") o a bajas temperaturas (4-8°C, semen "refrigerado"). La primera opción técnica no es siempre factible de lograr en forma práctica en nuestro medio rural (utilización de conservadoras termo regulables, etc.) y además, no asegura buena calidad espermática por más de 5-6 horas, limitando así la llegada del material seminal a lugares distantes. Por ello, atrae el interés analizar y mejorar la fertilidad de los servicios realizados con la preservación a temperatura de "refrigeración" (temperatura de heladera).

Con el objetivo de mantener a los espermatozoides viables durante períodos más prolongados es necesaria su dilución o extensión con una solución protectora. Los diluyentes o extensores seminales son un conjunto de sustancias naturales o sintéticas que preservan la viabilidad y fertili-

dad del semen; posibilitando el procesamiento y almacenamiento de los espermatozoides hasta la inseminación. Los resultados de fertilidad reportados tras la IA con semen preservado a 5°C utilizando diversos diluyentes son, además de variables, decrecientes con el paso de las horas de preservación (Salamon y Maxwell, 2000). Con el fin de generar propuestas aplicadas en el tema, se visualizó como necesario revisar por medio de estudios *in vitro* (observaciones de laboratorio) e *in vivo* (observaciones de campo), el comportamiento de nuevas formulaciones de diluyentes, formas y tiempos de preservación, y momentos óptimos de inseminación para la especie ovina.

El objetivo de esta publicación es resumir los principales resultados de investigación obtenidos en este tema en el período 2004-2007, generados por la cooperación existente entre la Facultad de Veterinaria en la EEMAC y la DILAVE "Miguel C. Rubino" - Paysandú. La información a ser presentada se enmarca en la actividad de proyectos de Vinculación con el Sector Productivo¹ e I+D² de la CSIC (UdelaR), de estas Instituciones.

METODOLOGÍA GENERAL DE LOS TRABAJOS

La población objetivo de trabajo han sido productores con majadas vinculadas al Programa Merino Fino del Uruguay, con cría sobre las condiciones extensivas características de nuestro Basalto.

La preparación de los diferentes diluyentes y los estudios de laboratorio se llevaron a cabo en dependencias del Laboratorio Regional "M. C. Rubino" DILAVE (Ruta 3, Km. 373, Paysandú).

Los estudios de campo fueron realizados siempre en estación de cría en el establecimiento ganadero "Piedra Mora" de Filliol y Barreiro (Ruta 26 Km. 100; Guarapirú, Paysandú; 32°05' S/ 57°10' O).

* Dr. Med.Vet., Dpto Ovinos, Lanas y Caprinos. Facultad de Veterinaria-EEMAC.

** Dr. Med.Vet., Área Reproducción. DILAVE "Miguel C. Rubino". Paysandú.

*** Dr. Med.Vet., estudiante posgrado Fac. Veterinaria, Escuela Agraria "La Carolina". UTU. Flores.

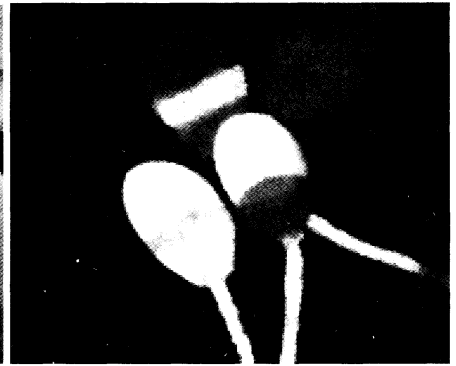
¹ Implementación de protocolos de preservación de semen de carnero y su fertilidad vía inseminación cervical en majadas del Programa Merino Fino". Olivera et al. 2003-2005.

² Efecto de la forma de preservación seminal, vía de deposición y sincronización de estros para la IA a tiempo fijo en estación reproductiva: generación de propuestas en majadas Merino Australiano Fino. Olivera et al. 2007-2009.

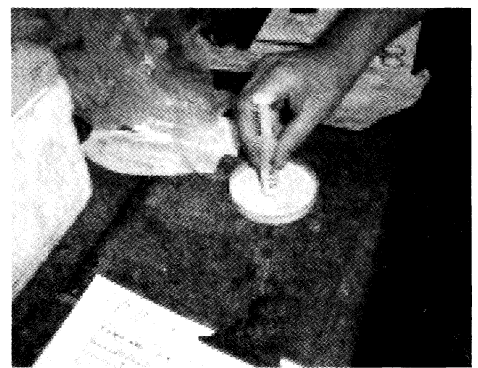
Se utilizaron animales de raza Merino Australiano (carneros y ovejas) con examen de aptitud reproductiva, manejados sobre campo natural reservado. En todos los estudios, y con el objetivo de minimizar el efecto "carnero" en la fertilidad, se utilizó un "pool" de semen de varios machos, obtenidos por vagina artificial, dividido en alícuotas según número de diluyentes o tiempos de preservación analizados. Las dosis seminales fueron preparadas con 120×10^6 millones de espermatozoides totales contenidos en 0.2 mL (relación semen/diluyente promedio: 1+5), envasados en condiciones anaeróbicas en pajuelas (estudios de laboratorio) o en jeringas descartables multidosis de plástico (estudios de campo). Las dosis fueron enfriadas paulatinamente hasta 5°C en un tiempo aproximado de 2 horas y mantenidas a esta temperatura hasta 72 horas máximo en conservadoras con bloques de hielo o en heladera.

En los estudios de campo se inseminó vía cervical con pistola y vaginoscopio Walmur® un número similar de ovejas por grupo ($n > 90$), en celo natural (detectado una vez al día con capones androgenizados) o en celo inducido con prostaglandinas. Con el objetivo de minimizar el efecto "día de inseminación y/o preservación" en la fertilidad, se distribuyeron los servicios de ovejas en celo natural en varios días. Se evaluó la concepción (o fertilidad: ovejas gestantes/ovejas inseminadas, porcentaje, prolificidad (corderos ecografiados/oveja gestante) y fecundidad final (corderos ecografiados/oveja inseminada) de cada estudio a los 40 días de la IA por medio de ecografía transrectal (Aloka® 500, 5.0 Mhz; Japón). Los resultados de estas variables fueron comparados por el test de Chi cuadrado o test de Brown.

En el **Estudio 1** (otoño 2004) (Figuras 1 y 2) y con el objetivo de seleccionar entre 11 diluyentes para refrigeración en base a leche (bases Fiser, Leche descremada UHT ó INRA-96, suplementadas con yema de huevo, glicerol y sus asociaciones), aquellos que mejor mantienen la "calidad seminal" con el transcurso del tiempo, se realizaron evaluaciones de laboratorio de los siguientes parámetros seminales predictores de fertilidad: motilidad espermática subjetiva a 38°C (Camara Makler-Haifa®, Israel; evaluada como porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva), integridad de membrana



Figuras 1 y 2. Valoración de la calidad seminal en el laboratorio.



Figuras 3 y 4. Almacenamiento anaeróbico de dosis seminales.

espermática (SYBR-14/IP: fluorescencia doble; evaluada como porcentaje de espermatozoides íntegros) y capacitación espermática (CTC/IP: fluorescencia doble; evaluada como millones de espermatozoides no capacitados totales). Se plantearon observaciones de estos parámetros en cinco momentos para cada diluyente: 0, 12, 24, 48 y 72 horas de enfriado el semen a 5°C. Las variables motilidad espermática y no capacitación espermática fueron analizadas según modelos lineales generalizados simples (ANOVA; SAS Institute Inc., 2000). La variable integridad de membrana fue analizada según un modelo lineal generalizado asumiendo distribución binomial (SAS Institute Inc., 2000).

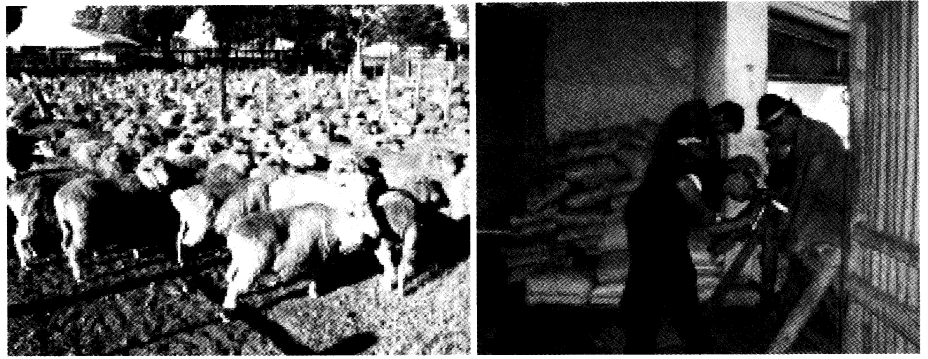
En el **Estudio 2** (otoño 2004) (Figuras 3, 4, 5 y 6), y con el objetivo de confirmar la predicción de fertilidad potencial realizada por el estudio de laboratorio, fueron comparados en una validación de campo, 5 de los diluyentes que presentaron comportamientos más disímiles. El semen permaneció en este estudio refrigerado por 24 horas a 5°C. Se incluyó un grupo "control" de fertilidad (semen sin preservación

diluido en leche descremada UHT). Se inseminó un total de 900 ovejas multíparas en celo natural acumuladas en 11 días de trabajo.

En el **Estudio 3** (otoño 2005), y con el objetivo de analizar fertilidad a campo de 2 diluyentes y 2 tiempos de preservación refrigerada a 5°C, se planteó la comparación entre el diluyente Piedra Mora® (Olivera-Gil-Fierro, 2007; Leche descremada- 5% Yema- 2% Glicerol, seleccionado del estudio 2 por su buen comportamiento reproductivo) y el diluyente "Tris" (recomendado por la bibliografía internacional), con 2 tiempos de preservación: 24 y 48 horas. Se incluyeron grupos controles de fertilidad con semen diluido sin preservar para estos 2 diluyentes y para leche descremada UHT (diluyente control). Se inseminó un total de 616 ovejas (nulíparas y multíparas) en celo natural acumuladas en 8 días de trabajo.

En el **Estudio 4** (otoño 2007), y con el objetivo de determinar cuál sería el momento óptimo de IA vía cervical de semen refrigerado a 5°C por 24 horas en ovejas con celo inducido (protocolo Synchrovine®: PG2 α separadas 7 días),

se compararon 3 momentos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) de acuerdo al siguiente protocolo: 42, 48 y 54 horas pos segunda prostaglandina, con semen de carnero refrigerado con diluyente Piedra Mora®. En este estudio, se incluyó un grupo control con semen sin preservar, diluido también en Piedra Mora® e inseminación a 48 horas. Se inseminó un total de 365 ovejas multíparas.



Figuras 5 y 6. Valoración de fertilidad a campo: IA con semen refrigerado 5°C

PRINCIPALES RESULTADOS OBTENIDOS

Estudios 1 y 2:

Selección de diluyentes en "laboratorio" y "campo"

La evaluación "en laboratorio" de una dosis de semen preservado permite orientar sobre la calidad biológica de esa dosis. La fertilidad evaluada "a campo" es un método de evaluación costoso, lento y requiere gran número de animales inseminados bajo condiciones similares en un período de tiempo acotado, estando influida por factores intrínsecos y extrínsecos a la dosis de semen, además de factores ambientales y de manejo. Así, el estudiar previamente "en laboratorio" lo que luego será implementado "a campo", permite analizar el comportamiento de un número más importante de diluyentes de preservación de semen administrando mejor los recursos. En la medida que se preste atención a aquellos parámetros espermáticos relacionados con fertilidad, se obtendrán criterios de selección de los diluyentes para la etapa a campo.

Un sólo parámetro o característica espermática aporta información limitada sobre la fertilidad potencial del semen o dosis de inseminación, por lo que es conveniente evaluar más de uno para fortalecer el valor predictivo de dicha evaluación. La motilidad espermática progresiva resulta ser un aspecto de los más importantes y difundidos, se expresa en aquellos espermatozoides que presentan una serie de atributos de integridad estructural y fisiológica asociados con la fertilidad. Otros parámetros de viabilidad espermática, como la integridad de membrana y el estado de capacitación, también se relacionan con la fertilidad, pero son más complejos y costosos de realizar, por lo que generalmente escapan de las evaluaciones de rutina. Aquí se incluyen también resultados de

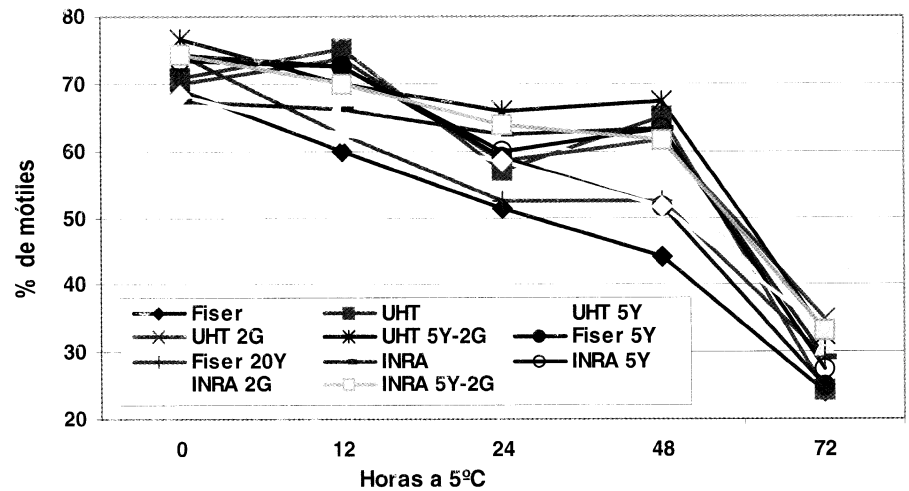


Figura 7. Evolución de la motilidad espermática de 11 diluyentes de semen de carnero en cinco momentos de observación a 5°C (medias en % de espermatozoides motililes).

FISER: Diluyente Fiser; UHT: Leche Descremada UHT; UHT 5Y: Leche Descremada UHT + 5% Yema de Huevo; UHT 2G: Leche Descremada UHT + 2% de Glicerol; UHT 5Y-2G: Leche Descremada UHT + 5% Yema de Huevo + 2% de Glicerol; FISER 5Y: Diluyente Fiser + 5% de Yema de Huevo; FISER 20Y: Diluyente Fiser + 20% de Yema de Huevo; INRA: INRA-96; INRA 5Y: INRA-96 + 5% de Yema de Huevo; INRA 2G: INRA-96 + 2% de Glicerol; INRA 5Y-2G: INRA-96 + 5% de Yema de Huevo + 2% de Glicerol.

los últimos dos parámetros mencionados para profundizar más en el grado de estrés al que se someten los espermatozoides durante la preservación. Mayor detalle de estos estudios fueron revisados en previas publicaciones de nuestro grupo de trabajo (Gil y Olivera, 2004; Fierro, 2005).

Los principales hallazgos del **Estudio I** se resumen en las Figuras 7, 8 y 9.

A grandes rasgos e independiente del diluyente se observa que los parámetros de fertilidad evaluados en el laboratorio disminuyeron en la medida que el tiempo de preservación a 5°C aumentó. Sin embargo, algunos diluyentes mantendrían una buena calidad seminal hasta las 48 horas de preservación a 5°C. En este sentido, los diluyentes suplementados con yema de huevo y/o glicerol presentaron mejor "calidad seminal" con el transcurso del tiempo, o sea mayor protección ante el daño

por frío, que aquellos sin estos aditivos. Se seleccionaron para el estudio a campo los siguientes diluyentes: UHT5Y, UHT5Y2G, INRA5Y, INRA5Y2G y FISER20Y.

Los principales hallazgos del **Estudio 2** se presentan en la Figura 10.

La concepción del grupo control (semen sin preservación) fue superior a la de todos los diluyentes con semen preservado a 5°C por 24 h ($P < 0.05$). Los diluyentes UHT 5Y2G, INRA 96® 5Y e INRA 96® 5Y2G presentaron una concepción mayor que el protocolo FISER 20Y ($P < 0.05$). El diluyente UHT 5Y tuvo un comportamiento intermedio entre estos diluyentes de preservación ($P > 0.05$).

Por otra parte, queda evidenciada la pérdida en calidad seminal y por ende en concepción del semen preservado a 5°C. No obstante, se observa la importancia de

algunos aditivos, como la yema de huevo y el glicerol, para mejorar la calidad biológica del semen preservado a 5°C. Pese a que lo ideal sería prescindir de la yema de huevo (por factores sanitarios), aún hoy es difícil encontrar con facilidad un aditivo que la reemplace. También se observó un sinergismo entre ellos, siendo recomendable el uso combinado de ambos aditivos para mejorar los resultados.

Los resultados obtenidos en los estudios de laboratorio fueron confirmados en la fase de campo. Aquellos diluyentes con un mejor comportamiento en las evaluaciones de laboratorio fueron los que presentaron luego una mayor concepción a campo. Esto confirma la buena correlación reportada entre algunas pruebas de predicción de fertilidad y lo que ocurre realmente a campo (Amann, 1989).

En suma, de los **Estudios 1 y 2** se desprende que la preservación en sí misma disminuye en forma significativa la fertilidad "óptima". Sin embargo, hay diluyentes en base a leche descremada UHT o al INRA 96®, con el aditivo de yema de huevo y/o glicerol, que permitirían tras 24 horas a 5°C, acceder a resultados de concepción aceptables en ovejas en celo natural.

Estudio 3: Comparación de diluyentes y tiempos de preservación

Los principales resultados de este estudio se presentan en la Figura 11 y han sido revisados en previas comunicaciones (Olivera *et al.*, 2005; Araújo *et al.*, 2006).

La información presentada indicaría en primera instancia que el diluyente Piedra Mora® (Leche descremada UHT- 5% Yema- 2% Glicerol) (Olivera *et al.*, 2007), podría ser utilizado sin riesgo aparente de toxicidad espermática, aun fuera de las condiciones de preservación para las cuales originalmente se formuló (5°C; Gil y Olivera, 2004). Al parecer, los niveles de glicerol adicionados no resultarían perjudiciales para el semen y sí suficientes para amortiguar posibles variaciones de temperatura. Este hallazgo resulta de gran interés práctico para los técnicos de centros de carneros y productores que adquieren dosis seminales para sus servicios sobre celo natural. El diluyente Piedra Mora® permitiría realizar la dilución seminal, utilizar las dosis necesarias en fresco y refrigerar el semen restante para ser utilizado en los siguientes días, sin necesidad de adi-

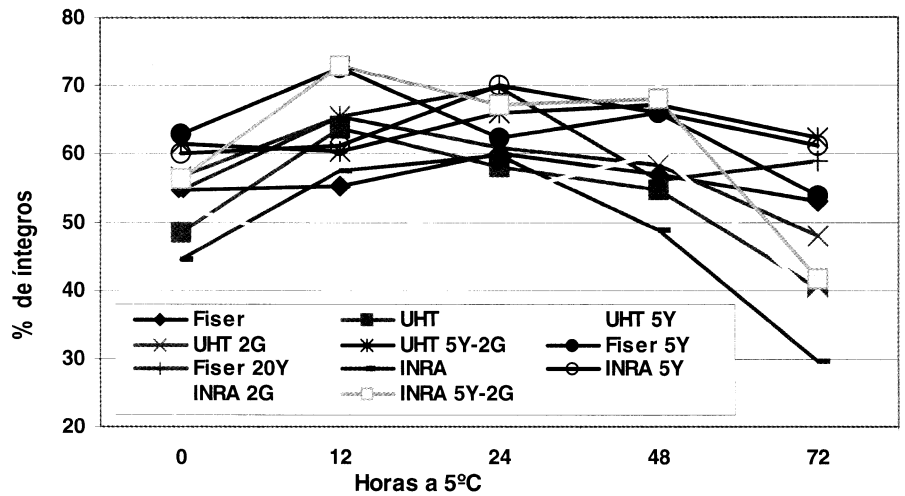


Figura 8. Evolución de la integridad de membrana de 11 diluyentes de semen de carnero en cinco momentos de observación a 5°C (medias en % de espermatozoides íntegros).

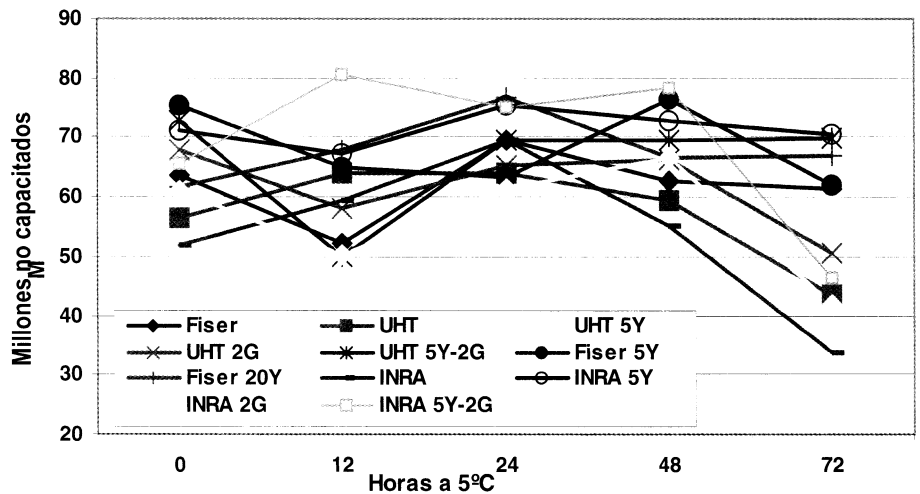


Figura 9. Evolución de la no capacitación espermática de 11 diluyentes de semen de carnero en cinco momentos de observación a 5°C (millones de espermatozoides no capacitados).

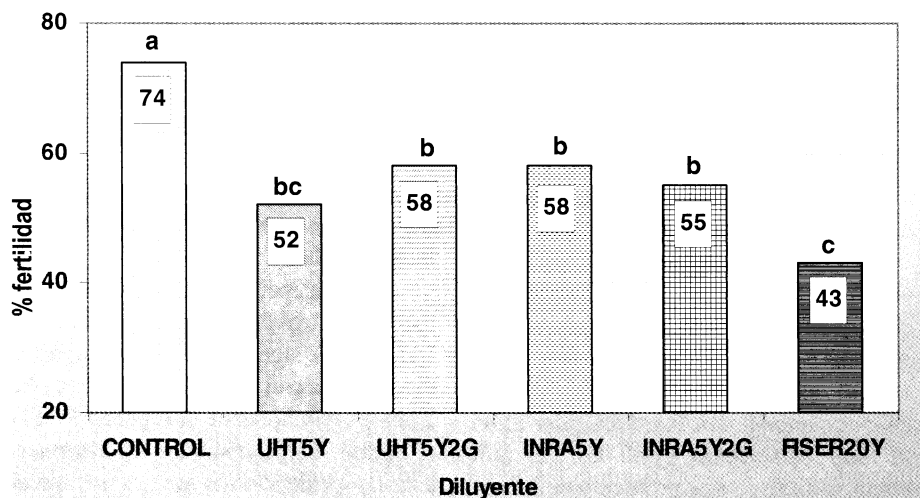


Figura 10. Concepción según diluyente de preservación de semen a 5°C (%).

CONTROL: Leche Descremada UHT sin preservación; UHT 5Y: Leche Descremada UHT + 5% Yema de Huevo; UHT 5Y2G: Leche Descremada UHT + 5% Yema de Huevo + 2% de Glicerol; INRA 5Y: INRA-96 + 5% de Yema de Huevo; INRA 5Y2G: INRA-96 + 5% de Yema de Huevo + 2% de Glicerol; FISER 20Y: Diluyente Fiser + 20% de Yema de Huevo. Concepción: % ovejas gestantes/ovejas inseminadas, evaluada a 40 días por ecografía.

*: Letras diferentes expresan diferencias significativas ($P < 0.05$).

cionar otro diluyente o crioprotector.

Por otra parte, se observó que el semen sin refrigerar diluido en diluyente Piedra Mora® (hora 0), tuvo una concepción superior a la obtenida por este diluyente a las 24 o 48 horas de preservación. Este resultado es concordante con previos hallazgos de nuestro grupo (Fierro, 2005).

Sin embargo, no se observaron diferencias de concepción en el diluyente Piedra Mora® entre la preservación a 24 y 48 horas a 5°C ($P>0,05$). Esto indicaría que las dosis seminales procesadas con este diluyente podrían ser mantenidas al menos hasta las 48 horas, sin disminución significativa de la fertilidad, coincidiendo este resultado con los datos aportados por las pruebas de laboratorio realizadas en el Estudio 1.

Independiente del tiempo de preservación, la concepción alcanzada por el diluyente Piedra Mora® fue siempre superior que la del diluyente Tris, no observándose diferencias entre tiempos de preservación dentro de este diluyente. El diluyente Tris es recomendado por la bibliografía para la preservación refrigerada del semen de carnero (Salamon y Maxwell, 2000).

En suma, del Estudio 3 se desprende que el diluyente Piedra Mora® podría ser utilizado para refrigerar semen hasta las 48 horas de preservación, con resultados favorables de concepción en IA cervical de ovejas en celo natural respecto de otros diluyentes.

Estudio 4: Momento óptimo de inseminación con semen refrigerado y celo inducido.

Los principales resultados de este estudio preliminar se resumen en el Cuadro 1 y serán presentados en próximas comunicaciones (Bottaro y col., 2007).

En este estudio se observa que utilizando semen refrigerado por 24 horas, la concepción y fecundidad lograda fueron menores cuando la IA vía cervical se realizó a las 42 horas de la segunda PGF2 α , en comparación con los otros momentos de IATF establecidos ($P<0,05$). Por esta razón, utilizando este protocolo de inducción hormonal de celos, no parece recomendable inseminar con semen refrigerado vía cervical antes de las 48 horas de la segunda PGF2 α . En cierta forma, la capacitación o maduración espermática pro-

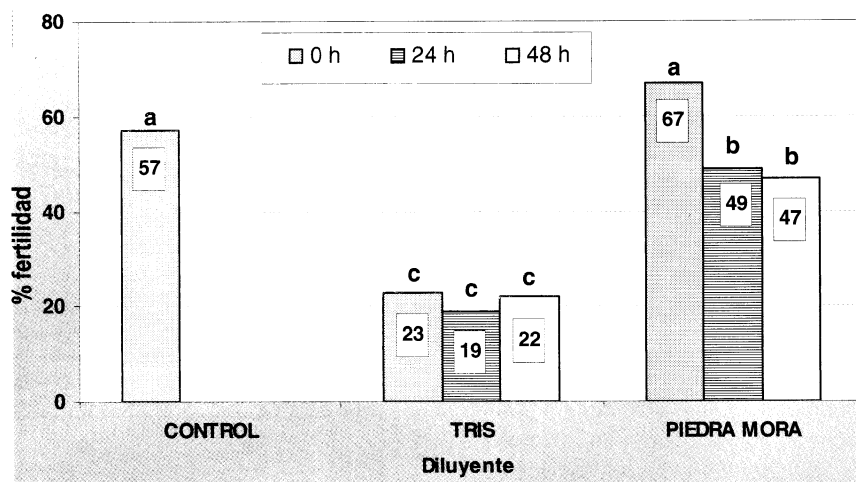


Figura 11. Diluyente, horas de preservación a 5°C y concepción (%).

CONTROL: Leche descremada UHT; TRIS: TRIS-Fructosa-Ácido cítrico-14% Yema; Piedra Mora: Leche descremada-5% Yema-2% Glicerol; 0 h: dilución en Control, Tris o Piedra Mora sin preservación=semen fresco; 24 h: dilución en Tris o Piedra Mora con preservación a 5°C por 24 horas; 48 h: dilución en Tris o Piedra Mora con preservación a 5°C por 48 horas. Concepción: % ovejas gestantes/ovejas inseminadas, evaluada a 40 días por ecografía.

*: Igual tiempo de preservación o diluyente, letras diferentes expresan diferencias significativas ($P<0,05$).

Cuadro 1. Comparación de 3 momentos de IATF vía cervical con semen refrigerado y control con semen fresco en ovejas multiparas con celo inducido.

	Control Fresco	Synchrovine®-42	Synchrovine®-48	Synchrovine®-54
Concepción	0.31 ^b	0.06 ^a	0.24 ^b	0.22 ^b
Prolificidad	1.03 ^a	1.00 ^a	1.00 ^a	1.05 ^a
Fecundidad	0.32 ^b	0.06 ^a	0.24 ^b	0.23 ^b

IATF: Inseminación artificial tiempo fijo; Control Fresco: dos dosis PGF2a separadas 7 días e IATF a 48 horas con semen fresco; Synchrovine®-42, -48 ó -54: dos dosis PGF2a separadas 7 días (Cloprostenol-DL 125 µg/dosis) e IATF a 42, 48 ó 54 horas de la segunda PGF2a con semen refrigerado; Concepción: ovejas gestantes a ecografía/ovejas tratadas; Prolificidad: corderos a ecografía/oveja gestante; Fecundidad: corderos a ecografía/oveja tratada.

* Letras diferentes igual fila expresan diferencias significativas ($P<0,05$).

vocada por el proceso de refrigeración estaría conduciendo a que los espermatozoides deban ser depositados lo más cercano posible al momento de la ovulación (Gillan y col., 2004).

La concepción y fecundidad del protocolo Control Fresco (semen fresco) a la IATF no fue significativamente superior a la alcanzada con semen refrigerado e IATF a las 48 o 54 horas de la segunda PGF2 α ($P>0,05$). Estos resultados preliminares estarían evidenciando, que es posible obtener un aceptable comportamiento reproductivo con semen refrigerado y celo inducido en comparación con semen fresco, cuando se tiene en cuenta el momento de inseminación. Validar estas observacio-

nes permitiría generar propuestas para aquellos productores que demanden semen preservado de un carnero mejorador y deseen efectivizar los servicios con celos sincronizados en pocos días, o la efectiva organización de la demanda de semen en centros de carneros.

CONSIDERACIONES FINALES

La preservación del semen de carnero a 5°C para IA vía cervical parece una herramienta de gran utilidad en condiciones extensivas, posibilitando el uso de carneros mejoradores en más de un lugar físico al mismo tiempo. A pesar de la relativa

caída de la fertilidad se identifican diluyentes, que utilizados en condiciones aneróbicas, favorecerían los resultados de campo tras la preservación por 24 horas a 5°C. El diluyente Piedra Mora® podría incluso utilizarse para diluir y preservar semen de carnero a 5°C al menos hasta las 48 horas, sin disminución importante de la fertilidad natural.

Los conocimientos de preservación seminal aquí presentados, han sido aplicados exitosamente en las dos últimas temporadas de servicio del Núcleo Merino Fino (INIA Glencoe, Tacuarembó), con el fin de facilitar la conexión de carneros de este núcleo con los productores enmarcados en el programa. Se transforma así, en un claro ejemplo de investigación-transferencia de tecnología aplicable a los sistemas productivos.

Un mayor número de trabajos son necesarios para poder incrementar y validar la información generada acerca del momento más oportuno de inseminación cuando utilizamos semen refrigerado en programas con inducción artificial del celo. La obtención de esta información incrementará los beneficios de la IA, favoreciendo el uso de carneros mejoradores, disminuyendo el manejo de la majada en los Bretes, permitiendo pariciones más concentradas, una

mejor planificación sanitaria-nutricional, y asociando una mejor eficiencia reproductiva con prácticas de manejo que respeten el bienestar animal y ambiental.

Es indudable el impacto del mejoramiento genético en el crecimiento económico de los sistemas productivos. La mayor contribución de la genética se expresa cuando alcanza a difundirse masivamente en la majada general, logrando así un efecto sobre toda la población y no sólo en los planteles. La búsqueda para desarrollar nuevas biotecnologías debe considerar su factibilidad de aplicación en todas las condiciones presentes en el país, así como mantener visible su relación costo/beneficio. Por otra parte, resulta valioso que la investigación sea conducida por Instituciones públicas en estrecha vinculación con el sector privado como en este caso. Ese escenario permite acercar temporalmente el desarrollo de tecnologías con su uso comercial. Estas líneas de trabajo son sin duda un esfuerzo en ese sentido. ▼

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo quieren agradecer especialmente al Sr. Eduardo Filliol Barreiro y flia., y al personal del establecimiento "Piedra Mora", por su

invalorable colaboración para impulsar estos trabajos de investigación-validación.

A los Tesistas de Grado de Facultad de Veterinaria: Bachilleres Ana Araujo, Virginia Teixeira, Juan Gamarra, Milagros Bottaro, Fernando Fossati, Mario Martincorena, Martin Regusci, motores de estos estudios desde el año 2004.

A los Drs. G. Decuadro - H. (IMV), G. Durán, S. Forichi, S. Gama, J. Herman, E. Rubia nes y C. Viñoles, por su colaboración en los trabajos o apoyo con materiales.

Al Ing. Agr. Oscar Bentancur por la ayuda en el procesamiento estadístico de datos.

Al Laboratorio Uruguay S.A. por proporcionar la PGF2 α necesaria (SINCRON-DL®).

A la Sociedad de Criadores de Merino Australiano, INIA y SUL, por afianzar los proyectos que dieron origen a esta línea de trabajo.

Al MGAP-DILAVE "Miguel C. Rubino" por brindar instalaciones y recursos humanos.

A la Universidad de la República, por la financiación de trabajos e inversiones realizadas (Proyectos CSIC Mod 2 N° 600/6010, CIDECE 2006 y CSIC I+D 600/6015).

BIBLIOGRAFÍA

- AMANN, R. P. 1989. Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately?. J. Androl. 10: 89-98.
- ARAUJO, A.; GAMARRA, J.; TEIXEIRA, V.; FIERRO, S.; GIL, J.; OLIVERA, J. 2006. Efecto de dos diluyentes y dos tiempos de preservación de semen refrigerado sobre la concepción en IA cervical de ovinos en celo natural. XXXIV Jornadas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. 219-220.
- BOTTARO, M.; FOSSATI, F.; MARTINCORENA, M.; REGUSCI, M.; GIL, J.; OLIVERA, J. 2007. Importancia del momento de IATF con semen refrigerado en ovinos. V Jornadas Técnicas de la Facultad de Veterinaria, Noviembre 2007. Montevideo, Uruguay.
- FIERRO, S. 2005. Comportamiento de diferentes diluyentes en base a leche con adición de yema de huevo y glicerol para la preservación de semen de carnero efrigerado (5°C): ensayos *in vitro* e *in vivo* en majadas del Programa Merino Fino. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay. 45 p.
- GIL, J. y OLIVERA, J. 2004. Preservación de semen de carnero a 5°C: resultados con diferentes diluyentes para la IA en majadas del Proyecto Merino Fino. Serie de Actividades de Difusión 392. INIA Tacuarembó. "Avances obtenidos en el Proyecto Merino Fino del Uruguay: Núcleo Fundacional U.E. Glencoe 1999-2004". Sección 3.
- GILLAN, L.; MAXWELL, W. M. C.; EVANS, G. 2004. Preservation and evaluation of semen for artificial insemination. Reprod Fert and Dev. 16 (4): 447-454.
- OLIVERA, J.; GIL, J.; ARAUJO, A.; GAMARRA, J.; TEIXEIRA, V.; FIERRO, S. 2005. I.-Preservación seminal para la IA cervical en majadas del Proyecto Merino Fino: Semen refrigerado (24 y 48 horas). Serie de Actividades de Difusión 439. INIA Tacuarembó. "Avances obtenidos en el Proyecto Merino Fino del Uruguay: Núcleo Fundacional U.E. Glencoe 1999-2005". Sección 3.
- OLIVERA J.; GIL, J.; FIERRO, S. 2007. Piedra Mora®: Protocolo de preservación seminal refrigerada (5°C) en carneros. Ministerio de Industria, Energía y Minería. Montevideo, Uruguay.
- SALAMON, S.; MAXWELL, W. M. C. 2000. Storage of ram semen. Anim. Reprod. Sci. 62: 77-111.
- SAS INSTITUTE INC. 2000. SAS Procedures Guide, Version 8.3, Cary, NC: SAS Institute Inc.