

ASPECTOS DE LA FISILOGIA EXPERIMENTAL DE LA REPRODUCCION EN LA ALTURA

Por MAURICIO SAN MARTIN y JORGE ATKINS con la colaboración del Ing^o. JOSE CASTAÑON en el capítulo de inseminación artificial

En este trabajo, presentamos los resultados obtenidos en 5 años de experimentación sobre la reproducción en la altura. Desde 1940, cuando se demostró la acción letal del dilutor de tartratos sobre el espermatozoide (1), hasta la fecha, hemos avanzado en el estudio de la reproducción, pero siendo este tema, tan amplio y de tanto interés, por su aplicación práctica, creemos que nuestros resultados deben ser considerados como un sondeo preliminar en este estudio. Cada punto tiene que ser revisado y analizado cuidadosamente, porque de los resultados que se obtenga en trabajos experimentales, depende el establecimiento de directivas científicas para la reproducción y fomento de la población animal de nuestra sierra.

METODOS Y TECNICAS

A.—Métodos empleados para la colección del semen.

1.—Vaginal.

Mediante una jeringa de 5 c.c. a la que se adapta una pipeta de 0.1 c.c., es recogido el semen de la extremidad anterior de la vagina inmediatamente después del servicio.

Queremos agradecer al Ing^o. Krostzinsky, quien en 1940, al principiar estos estudios, nos acompañó por algunas semanas; al Prof. Mackenzie, de la Universidad de Missouri, quien en su visita al año 1942, nos dió muchas ideas técnicas; a la Junta Nacional de la Industria Lanar, por su valiosa ayuda económica; a la Sociedad Ganadera, del Centro; a la Sociedad Ganadera de Junín a los ingenieros agrónomos administradores de las haciendas Laive, Acopalca, Consac, Pachacayo, Corpacancha, y al señor Ferri, propietario de la hacienda "Cochas", por todas las facilidades que nos han brindado en nuestros trabajos.

Nuestro agradecimiento al Prof. D. Carlos Monge, Director del Instituto, por habernos recomendado esta tarea y por sus consejos en todas nuestras dificultades.

2.—*Vagina artificial.*

El aparato consiste esencialmente en un tubo de jebe de doble pared, entre la cual va agua caliente y teniendo en uno de sus extremos, un adaptador con un tubo de ensayo.

El uso de la vagina artificial presenta pocas dificultades. La eyaculación es colectada en el tubo de ensayo en condiciones casi estériles. Al usar la vagina debe tenerse especial cuidado de que el agua esté a la temperatura correcta en el momento de la colección; si está muy caliente o demasiado fría, el macho puede rehusar el servicio. Una temperatura de 41° es cercana al optimum en la mayoría de las especies. La dimensión de la luz interior y por consecuencia, la presión sobre el pene, está controlada por la cantidad de agua caliente. La mayoría de los animales trabajan fácilmente con la vagina artificial, si se tiene cuidado de que la temperatura y presión sean las convenientes y que la luz de la vagina esté bien lubricada.

Al macho se le excita con una borrega en celo y en el momento del servicio, se le introduce el pene en la vagina artificial, recolectando así, el semen eyaculado.

3.—*Eyaculación eléctrica.* (2)

Consiste en la excitación de los centros medulares del macho, mediante una corriente alterna de bajo voltaje. El método original de Gunn, lo hemos adaptado en la forma siguiente:

a.—*Polos.*

Por polo dorsal, se usa un electrodo de bola en la mitad de la columna lumbar, humedeciendo esta zona con suero fisiológico y por polo rectal, un electrodo que se introduce 4 pulgadas dentro del recto, previo enema de suero fisiológico.

b.—*Excitador.*

La corriente continua que produce una batería, se transforma en corriente alterna de 50 ciclos mediante un vibrador, controlados el voltaje y amperaje por medio de reostatos y resistencias.

c.—*Corriente y forma de excitación.*

La corriente debe ser de 30 voltios, antes de cerrar el circuito y cuando esto se hace, se vigila el amperaje que no debe ser mayor de 150 miliamperios.

El tiempo de excitación es de 5 segundos y las pausas entre las excitaciones, por lo menos de medio minuto.

B.—*Medición del volumen.*

Se hace recogiendo el semen en tubos graduados o midiéndolo con pipetas de 1 o 2 c.c.

C.—*Métodos para la determinación del pH.*

1.—*Colorimétrico.*

Este método lo hemos utilizado en todas las muestras recogidas por la eyacuación eléctrica. Empleamos papeles indicadores de pH 6.0 a 8.5, proporcionados por la "Casa Bayer".

Los papeles indicadores se han chequeado con el método eléctrico, encontrando que daban su pH correspondiente, pero con una aproximación al pH 0.2 y el método eléctrico al pH. 0.05.

2.—*Eléctrico.*

Para los semenes recogidos por la vagina artificial, usamos un potenciómetro Beckman, con electrodos de vidrio y yoduro de potasio. El potenciómetro se calibraba diariamente con soluciones patrones.

D.—*Recuento de espermatozoides.*

Hemos empleado cámaras de Thomas y pipetas para glóbulos rojos; para inmovilizar al espermatozoide se hacía la dilución del semen, con una solución de cloruro de sodio al 3%.

F.—*Dilutor del semen.*

Sólo utilizamos en estos trabajos, el dilutor de Phillips, que es una solución M8 de fosfato mono potásico y fosfato bisódico, químicamente puros, mezclada con un volumen igual, de yema de huevo fresca, a la que se ha separado cuidadosamente la clara.

G.—*Inseminación artificial.*

El método empleado ha sido el de inyectar lentamente, en el orificio externo del cuello uterino, 0.1 a 0.2 c.c., de semen diluido al cuarto. Usando como inyector, pipetas de 0.2 c.c. adaptadas a jeringas y tomando como precaución, el que las pipetas estuvieran a la misma temperatura que el semen.

TRABAJOS EXPERIMENTALES

Nuestro estudio lo dividiremos en tres capítulos;

- I Estudio del carnero
- II Estudio de la oveja
- III Ensayos de inseminación artificial.

I *Estudio del Carnero* (3)

Como los caracteres del semen de carneros recién llegados a la altura y de los aclimatados, son diferentes, nos ocuparemos separadamente de cada uno de ellos, pero antes, es conveniente presentar un fenómeno que hemos observado recientemente y es la azoospermia producida por movilización del animal a un mismo nivel. Este fenómeno, lo hemos estudiado detenidamente, en 4 carneros adquiridos en Magallanes y que fueron transportados al Callao, por vía marítima, en un viaje que duró 30 días. Es de advertir, que su llegada fué en el mes de Abril, época muy calurosa en relación con su lugar de origen. (Temperatura aproximadamente en Magallanes: variaciones extremas -20° y 5° , media anual -8.8°).

Los 4 animales presentaron el mismo fenómeno, es decir, que después de 40 días de reposo, se encontró a todos ellos, en azoospermia y con pH alcalino. En exámenes posteriores, aparecen los espermatozoides y rápidamente tienden a llegar a su número normal, notando en el pH, una ligera tendencia a disminuir su alcalinidad. La recuperación completa, se realiza entre los 60 a 75 días de su llegada, salvo en un carnero en que se inicia en los 2 últimos exámenes.

A.—*Estudio del carnero en periodo adaptativo.*

Terminada la recuperación de los machos que presentaron azoospermia después de un viaje al mismo nivel, los transportamos a nuestros laboratorios de Huancayo, haciendo el viaje en camión de noche para disminuir los traumatismos.

Del estudio en la altura podemos decir que:

- 1º.—En los primeros 20 días no se pudo tomar muestra de semen por la fatiga intensa de los animales al querer "servir".
- 2º.—En los cinco meses siguientes, ninguno presentó una verdadera azoospermia aclimatándose en la forma siguiente:

CARNERO 2—L—25

	<i>Fecha</i>	<i>pH</i>	<i>Nº. esp. por c.c.</i>	<i>Motilidad</i>
20	Agosto	7.2	.900 millones	5
27	"	7.0	1,050 "	5
5	Setiembre	6.6	2,370 "	5
11	"	6.7	2,800 "	5
15	"	6.65	2,500 "	5
25	"	6.7	2,730 "	5

CARNERO 1—B—119

	<i>Fecha</i>	<i>pH</i>	<i>Nº. esp. por c.c.</i>	<i>Motilidad</i>
20	Agosto	6.9	2,830 millones	5
27	"	6.85	2,880 "	5
5	Setiembre	6.8	2,800 "	5
11	"	6.8	3,200 "	5
15	"	6.9	2,980 "	5
25	"	6.85	2,940 "	ú

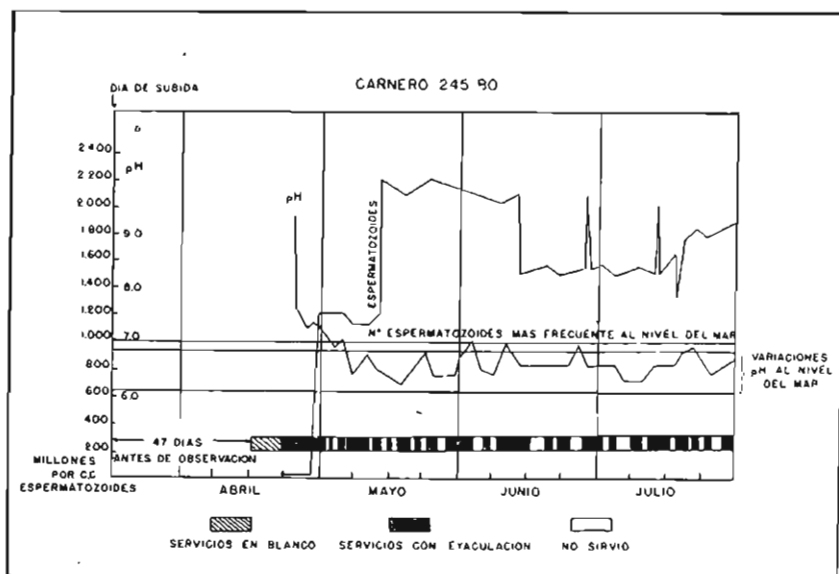
CARNERO 1—B—155

	<i>Fecha</i>	<i>pH</i>	<i>Nº. esp. por c.c.</i>	<i>Motilidad</i>
20	Agosto	7.4	700 millones	2
27	"	7.3	780 "	2
5	Setiembre	7.4	300 "	0
11	Setiembre	7.5	120 "	0
15	"	7.7	575 mil	0
25	"	7.55	150 "	0
2	Octubre	7.45	237 "	0
15	"	7.5	187 "	0
15	Noviembre	7.4	370 "	0
15	Diciembre	6.7	980 millones	5

CARNERO 211—K—2

Frigidez sexual marcada no pudiendo tomar ninguna muestra de semen.

En el año 1943 (4) hemos tenido la oportunidad de hacer exámenes seriados en un período largo, de dos carneros Corriedale de pedigree, adquiridos en Magallanes y trasportados a Huancayo inmediatamente después de su llegada al Callao.



GRAFICA N.º 1

La gráfica N.º 1 corresponde a uno de ellos, el 245 BO. En ella se ha inscrito la frecuencia media de espermatozoides de 1,000 millones por c.c. según McKenzie y las variaciones del pH de 6.2 a 6.8 al nivel del mar. Ahora bien, este carnero llevado a la altura y después de 47 días de reposo pasa por un período en que todos sus "servicios" son en blanco, es decir, sin eyacular. A partir de esa fecha, principia la eyaculación, pero con un semen sumamente alcalino y escaso número de espermatozoides. Rápidamente aumentan estos y el semen tiende a la acidificación hasta adquirir caracteres semejantes al de los animales que viven en la costa, 76 días después de llegado al animal a la altura. Estudiando la gráfica, puede además observarse que el animal, una vez recuperado, presentó cierto grado de frigidez y algo más interesante;

la cifra de espermatozoides sobrepasó con mucho la cifra media y se mantuvo aumentada.

El otro animal el 326 BO, ha permanecido casi 2 años en azoospermia, salvo 6 ocasiones en que presentó un espermatozoide por cada 3 o 4 campos de 900 aumentos. El pH del semen fué alcalino, variando sus límites extremos entre 8.90 y 7.90. El instinto sexual ha estado siempre aumentando. A este animal lo bajamos a Lima, no obteniendo ningún cambio durante su permanencia en la costa.

En 1944 hemos estudiado por una sola vez, 30 días después de su llegada a la altura, un lote de 20 carneros, comprados en Magallanes y que viajaron al Callao en el mismo barco en que vinieron los 4 carneros que presentaron azoospermia en la costa. Estos animales fueron llevados a Huancayo inmediatamente después de su llegada al Callao.

Los resultados fueron:

15 % con azoospermia

15 % con N^o. de espermatozoides disminuídos (50 a 275 millones por c.c.) y pH de 7.25 a 8.10.

10 % con N^o. de espermatozoides normales (980 a 1,740 millones por c.c.) y pH de 6.80 a 7.00.

30 % con N^o. de espermatozoides aumentado (2,930 a 4,870 millones por c.c.) y pH de 6.10 a 6.65.

30 % con frigidez sexual.

Estos resultados son sumamente interesantes pues demuestran:

1^o.—Que 4 carneros movilizados de Magallanes a nuestro país en época calurosa, presentaron azoospermia transitoria al quedarss en la costa.

2^o.—Que terminada la recuperación en la costa y trasladados a la altura, no disminuyó el número de espermatozoides. Sólo el animal que subió bruscamente en pleno proceso de recuperación presentó una reducción notable en el número de espermios.

3^o.—Que en 20 carneros movilizados directamente a la altura el 15% presenta azoospermia y otro 15%, disminución en el número de espermatozoides.

4^o.—Que el porcentaje de frigidez sexual en la altura es semejante cuando se les moviliza directamente o se les da un periodo de descanso en la costa.

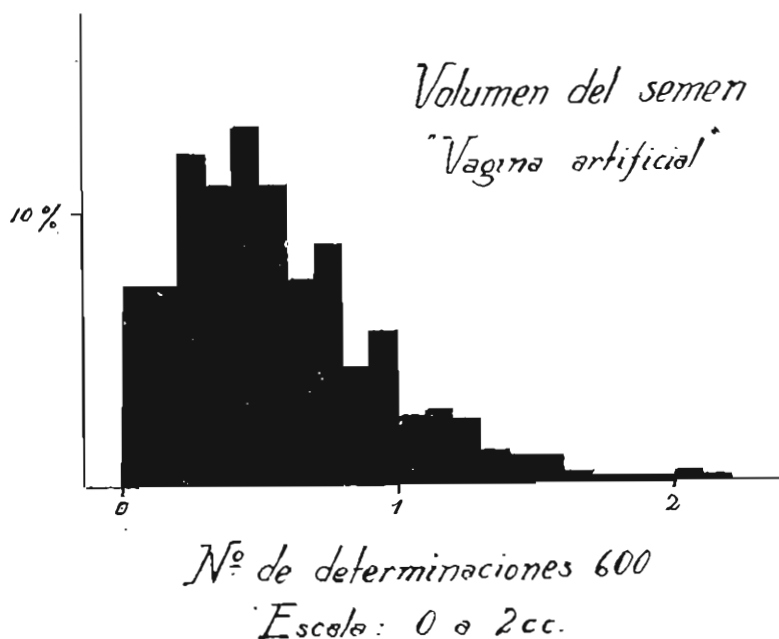
5^o.—Que de 2 carneros llevados directamente a la altura y que presentaran azoospermia, uno de ellos mostró lesiones permanentes.

B.—Estudio del carnero aclimatado. (5)

Al animal aclimatado lo hemos estudiado con 2 métodos de colección del semen: por la vagina artificial y la eyaculación eléctrica. Veremos separadamente lo obtenido con cada método, para al final hacer un estudio comparativo, advirtiendo que todos los animales estudiados eran considerados como aptos para la reproducción y empleados en los empadres naturales de las haciendas.

1º.—Método de la vagina artificial.

Volumen.

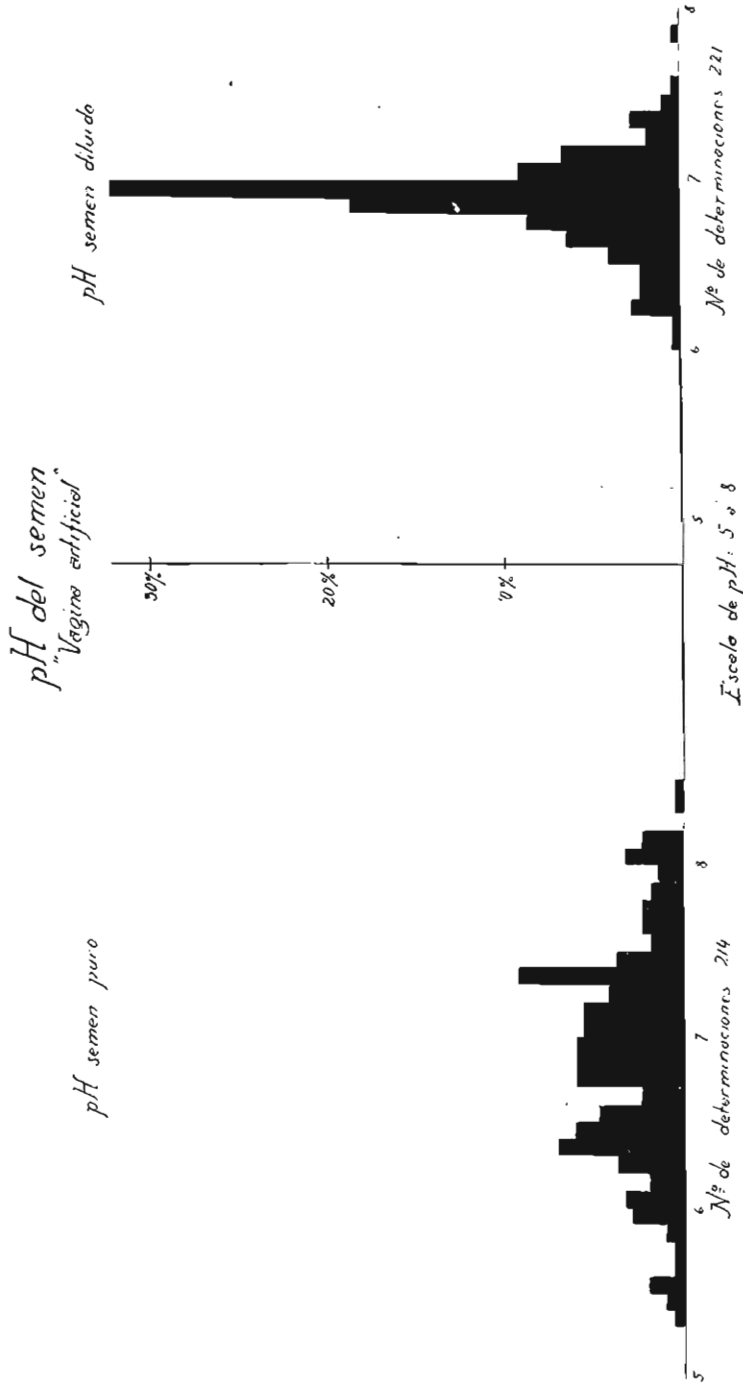


GRAFICA Nº 2

El volumen más frecuente se encuentra entre 0.30 a 0.60 c.c. siendo sus variaciones máximas entre 0.10 a 2.20 c.c. Los volúmenes mayores de 1.00 c.c., sólo representan el 12.5% del total de determinaciones. (Gráfica Nº 2).

El pH del semen puro, tiene variaciones extremas desde pH 5.4 a 8.5 (Gráfica Nº. 3). Los porcentajes son:

pH	6.4	a	5.6	7.75	%
..	5.7	..	5.8	7.75	%
..	5.9	..	6.0	7.75	%



GRAFICA Nº 3

„	6.1	„	6.2	5.00	%
„	6.3	„	6.4	10.75	%
„	6.5	„	6.6	10.75	%
„	6.7	„	6.8	8.25	%
„	6.9	„	7.0	12.00	%
„	7.1	„	7.2	11.25	%
„	7.3	„	7.4	13.25	%
„	7.5	„	7.6	5.50	%
„	7.7	„	7.8	15.50	%
„	7.9	„	8.0	15.50	%
„	8.1	„	8.2	15.50	%
„	8.3	„	8.4	15.50	%
„	8.5				

Es decir, el 66% se ajustan entre pH 6.3 a 7.4.

En la gráfica N^o 2 está también representado el pH de los mismos semenes, pero diluidos al cuarto con el dilutor de Phillips. Los porcentajes son:

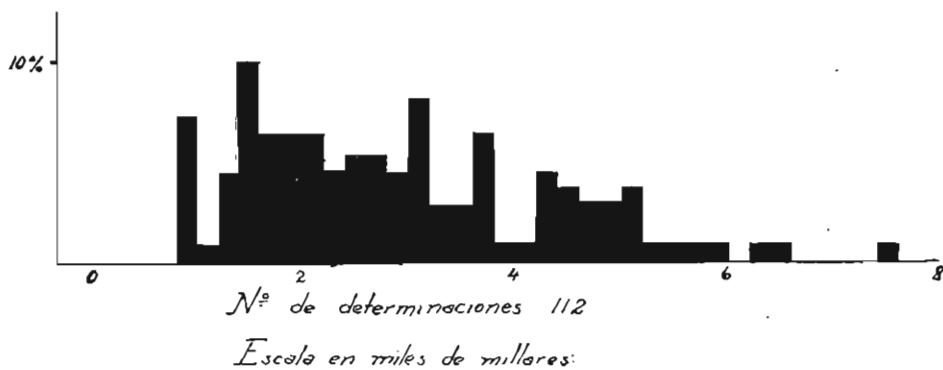
pH	6.1	a	6.2	1.0	%
„	6.3	„	6.4	5.0	%
„	6.5	„	6.6	7.0	%
„	6.7	„	6.8	14.5	%
„	6.9	„	7.0	50.5	%
„	7.1	„	7.2	15.5	%
„	7.3	„	7.4	4.5	%
„	7.5	„	7.6	1.5	%
„	7.7	„	7.9	0.5	%

Como se vé, el dilutor de Phillips, mezcla de Na_2HPO_4 y KH_2PO_4 en solución M/8, con parte igual de yema de huevo fresca y de un pH que varía entre 6.8 y 6.95, tiene un acción tampón sobre el semen, no sólo disminuyendo las variaciones extremas sino ajustándolo preferentemente entre pH 6.7 a 7.2.

Número de espermatozoides.

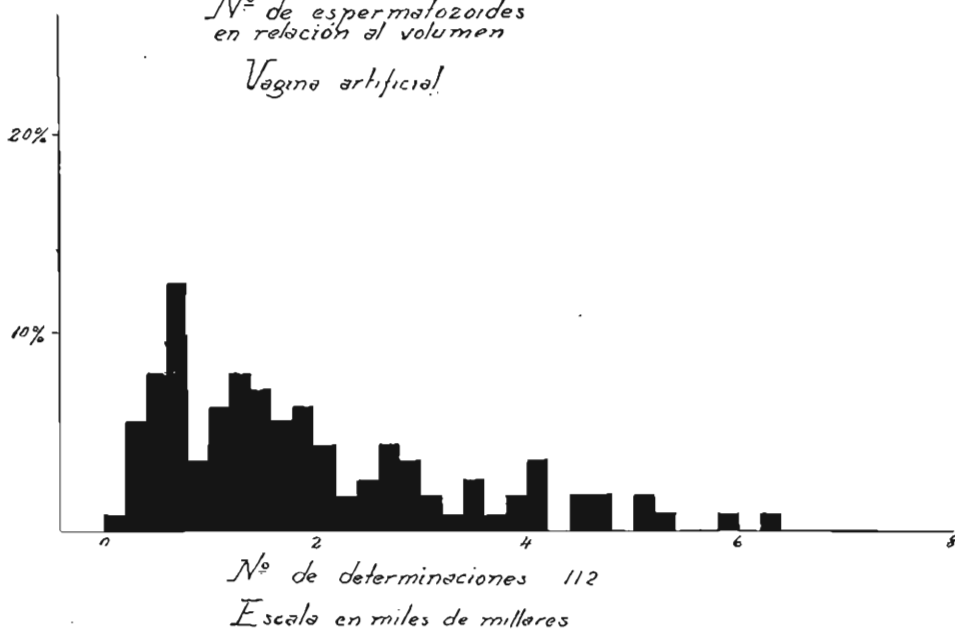
Las variaciones máximas del número absoluto de espermatozoides

Nº de espermatozoides x cc²
Vagina artificial



GRAFICA Nº 4

Nº de espermatozoides
en relación al volumen
Vagina artificial



GRAFICA Nº 5

por c.c. son de 800 a 7,600 millones por c.c. presentándose en la frecuencia siguiente: (gráfica Nº. 4)

800	a	1,000	7.2	%
1,001	„	2,000	26.6	%
2,001	„	3,000	24.5	%
3,001	„	4,000	19.9	%
4,001	„	5,000	13.7	%
5,001	„	6,000	5.6	%
6,001	„	7,000	1.6	%
7,001	„	7,600	0.9	%

Al relacionar las cifras absolutas con el volumen eyaculado (gráfica N^o 5 se obtiene:

100	a	1,000	30.4	%
1,001	„	2,000	33.4	%
2,001	„	3,000	17.0	%
3,001	„	4,000	8.0	%
4,001	„	5,000	7.0	%
5,001	„	6,000	3.4	%
6,001	„	6,400	0.8	%

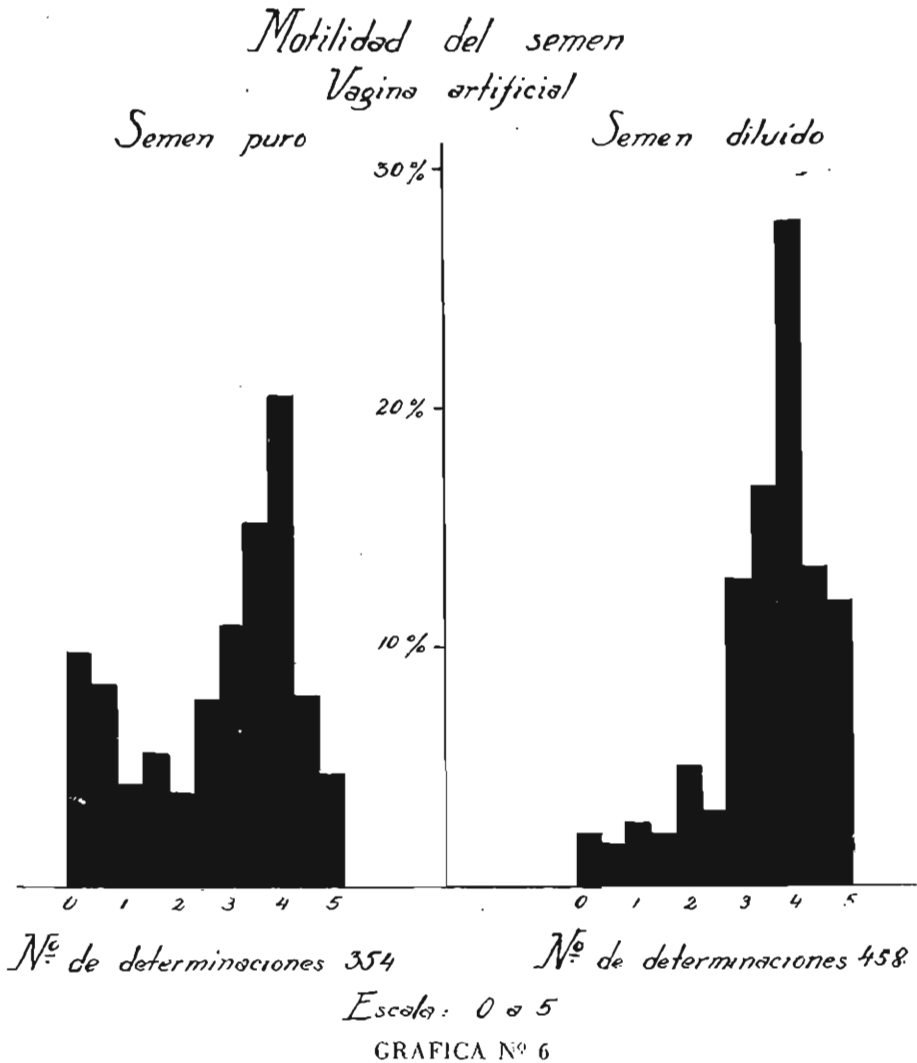
Es decir, que en cifras absolutas se obtiene más frecuencia entre los 1,000 a 5,000 millones por c.c., pero cuando estas cifras se relacionan con el volumen eyaculado la mayor frecuencia se presenta entre 100 a 2,000 millones de espermatozoides.

Motilidad.—

La motilidad se presenta con una escala que va del 0 al 5, correspondiendo esta última cifra a motilidades de 100 por 100. En la gráfica se puede ver que la mayor frecuencia se encuentra entre 3.0 y 4. Los porcentajes en % son: (gráfica N^o 6)

0.0	9.8	%
0.5	8.5	%
1.0	4.4	%
1.5	5.7	%
2.0	4.0	%
3.5	15.4	%
3.0	11.0	%

3.5	15 %
4.0	20.7 %
4.5	8.0 %
5.0	4.6 %



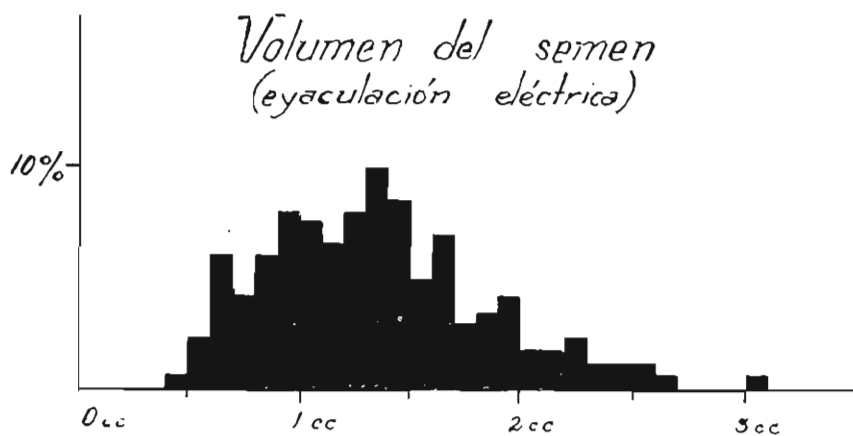
En la gráfica Nº. 6) se encuentra también la motilidad de los mismos semenes, pero diluïdos al $\frac{1}{4}$ en el dilutor de Phillips. Los porcentajes son:

0.0	2.0	%
0.5	1.7	%
1.0	2.7	%
1.5	2.3	%
2.0	5.0	%
2.5	3.1	%
3.0	12.9	%
3.5	16.7	%
4.0	28.2	%
4.5	13.4	%
5.0	12.0	%

Se puede apreciar que en el semen diluido la mayor frecuencia también se encuentra entre 3.0 y 4, pero disminuyendo los porcentajes en el extremo del 0 y aumentando en el del 5.

2º.—*Método de la eyaculación eléctrica.*

Volumen (gráfica N.º. 7)

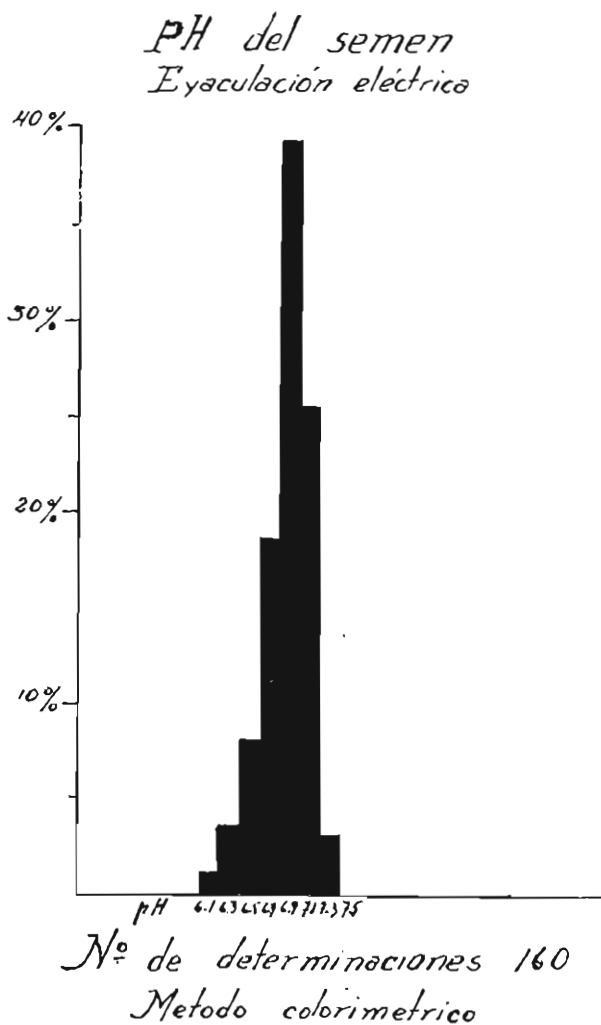


N.º de determinaciones 168

Escala (0-3 cc)

GRAFICA N.º 7

Las variaciones extremas son de 0.5 a 3.10 c.c., estando la mayor frecuencia entre 1.00 y 1.70 c.c. Los volúmenes menores de 1.00 c.c. sólo representan el 18% del total de las determinaciones.



GRAFICA N° 8

El pH por este método da variaciones extremas de 6.1 a 7.3 con mayor frecuencia en pH 6.9. Los porcentajes son: (gráfica N° 8)

pH	6.1	1.2 %
„	6.3	3.8 ¼ %
„	6.5	8.0 %
„	6.7	18.8 ¼ %
„	6.9	39.2 %
„	7.1	25.8 %
„	7.3	3.2 ¼ %

Es de advertir que estas determinaciones se han hecho por el método colorimétrico, controlado por el método eléctrico, dando los pH correspondientes, pero en aproximación de 0.2, en contra, de 0.05 que da el método eléctrico.

Número de espermatozoides (gráfica N.º 9)

Las variaciones máximas del número absoluto de espermatozoides por c.c. son entre 400 a 4,200 millones por c.c., siendo la frecuencia como sigue:

400	a	1,000	14.5	%
1,001	„	2,000	57.4	%
2,001	„	3,000	25.4	%
3,001	„	4,000	1.8	%
4,001	„	4,200	0.9	%

Relacionando las cifras absolutas con el volumen eyaculado (gráfica N.º 9, se obtiene:

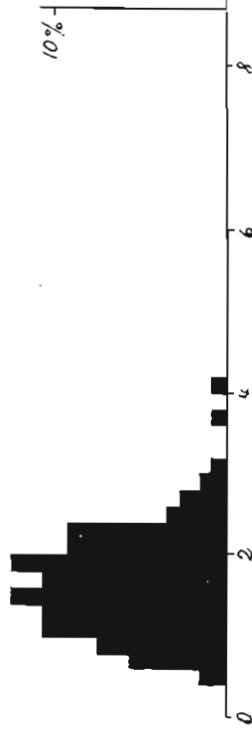
600	a	1,000	5.8	%
1,001	„	2,000	32.4	%
2,001	„	3,000	30.0	%
3,001	„	4,000	14.8	%
4,001	„	5,000	8.8	%
5,001	„	6,000	6.0	%
6,001	„	7,000	2.2	%

Comparando los resultados, vemos que la mayor frecuencia de espermatozoides en cifras absolutas, se encuentra entre los 1,000 a 2,000 millones por c.c., pero relacionando estos resultados con el volumen eyaculado, la frecuencia tiende a aumentar entre los 1,000 y 3,000 millones de espermatozoides.

Nº de espermatozoides
Eyaculación eléctrica

A

Nº de espermatozoides x cc.

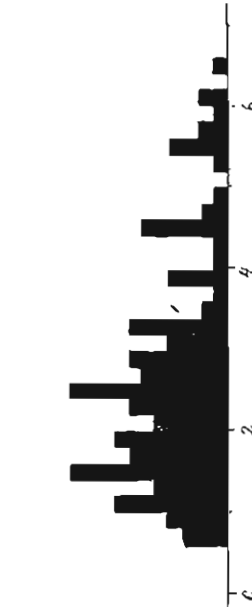


Nº de determinaciones : 120

Escola (0-7) miles de millones x cc

B

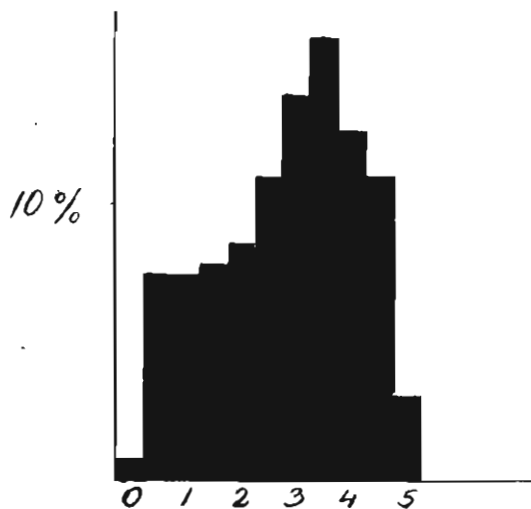
Nº de espermatozoides en relacion
al volumen eyaculado



Nº de determinaciones : 120

GRAFICA Nº 9

Motilidad del semen (eyaculación eléctrica)



N.º de determinaciones 120

Escala (0 - 5)

GRAFICA N° 10

Motilidad.—(gráfica N.º. 10)

La mayor frecuencia de la motilidad se encuentra entre 2.5 y 4.5.

Los porcentajes son:

0	0.6 %
0.5	7.3 %
1	7.3 %
1.5	7.9 %
2	8.6 %
2.5	11.0 %
3	14.1 %
3.5	15.9 %
4	12.8 %
4.5	11.0 %
5	3.0 %

3º.—*Estudio comparativo de los 2 métodos.*
Volumen.

<i>Volumen</i>	<i>Vagina artificial</i>	<i>Eyacuación eléctrica</i>
0.1 c.c.	7.3 %	—
0.2 c.c.	7.3 %	—
0.3 c.c.	12.2 %	—
0.4 c.c.	11.0 %	—
0.5 c.c.	13.2 %	0.5 %
0.6 c.c.	11.0 %	2.2 %
0.7 c.c.	7.4 %	5.9 %
0.8 c.c.	8.6 %	4.1 %
0.9 c.c.	4.4 %	5.9 %
1.0 c.c.	5.6 %	8.0 %
1.1 c.c.	2.5 %	7.5 %
1.2 c.c.	2.5 %	6.5 %
1.3 c.c.	2.3 %	8.0 %
1.4 c.c.	1.2 %	10.0 %
1.5 c.c.	1.0 %	8.5 %
1.6 c.c.	1.0 %	5.0 %
1.7 c.c.	0.4 %	7.0 %
1.8 c.c.	0.2 %	3.0 %
1.9 c.c.	0.2 %	3.5 %
2.0 c.c.	0.2 %	4.2 %
2.1 c.c.	0.3 %	1.8 %
2.2 c.c.	0.2 %	1.8 %
2.3 c.c.	—	2.3 %
2.4 c.c.	—	1.1 %
2.5 c.c.	—	1.1 %
2.6 c.c.	—	1.1 %
2.7 c.c.	—	0.5 %
—	—	—
3.1 c.c.	—	0.5 %

En el método de la vagina artificial, la mayor frecuencia se obtiene entre volúmenes de 0.30 a 0.60 c.c. y por el método de la eyacuación eléctrica, entre 1.00 y 1.70 c.c. Además, las variaciones en este último método, se desplazan hacia un mayor volumen.

pH.—

	pH		Vagina artificial	Eyacuación eléctrica
De	5.4	a 6.0	7.75 %	—
„	6.1	„ 6.5	25.00 %	13.00 %
„	6.6	„ 7.0	21.50 %	58.00 %
„	7.1	„ 7.5	28.50 %	29.00 %
„	7.6	„ 8.0	9.75 %	—
„	8.1	„ 8.5	7.50 %	—

Por la vagina artificial se obtienen variaciones de pH 5.4 a 8.5, presentando una mayor frecuencia entre pH 6.1 y 7.5. En cambio en la eyacuación eléctrica, las variaciones extremas son mucho menores y la mayor frecuencia se presenta entre pH 6.6 a 7.0.

Número de espermatozoides.

Nº.	espermatozoides		Vagina artificial	Eyacuación eléctrica
De	400	a 1,000	7.2 %	14.5 %
„	1,001	„ 2,000	26.6 %	57.4 %
„	2,001	„ 3,000	24.5 %	25.4 %
„	3,001	„ 4,000	19.9 %	1.8 %
„	4,001	„ 5,000	13.7 %	0.9 %
„	5,001	„ 6,000	5.6 %	—
„	6,001	„ 7,000	1.6 %	—
„	7,001	„ 7,600	0.9 %	—

En las cifras absolutas de espermatozoides por c.c., no sólo se obtiene una mayor variación extrema, con el método de la vagina artificial, sino que la mayor frecuencia aparece en cifras más altas, comparándolo con el otro método.

Relacionando las cifras absolutas con el volumen eyaculado, se tiene:

Nº.	espermatozoides		Vagina artificial	Eyacuación eléctrica
De	100	a 1,000	30.4 %	5.8 %
„	1,001	„ 2,000	33.4 %	32.4 %
„	2,001	„ 3,000	17.0 %	30.0 %
„	3,001	„ 4,000	8.0 %	14.8 %
„	4,001	„ 5,000	7.0 %	8.8 %
„	5,001	„ 6,000	3.4 %	6.0 %
„	6,001	„ 6,400	0.8 %	2.2 %

Es decir, las variaciones extremas en el método de la eyacuación eléctrica, han aumentado en el sentido de mayor número de espermatozoides y por el contrario, disminuyeron en el otro método.

Además, la mayor frecuencia en el método eléctrico ha tendido a un aumento de espermatozoides y en la vagina artificial a la disminución.

<i>Motilidad</i>	<i>Vagina artificial</i>	<i>Eyacuación eléctrica</i>
0	9.8 %	0.6 %
0.5	8.5 %	7.3 %
1	4.4 %	7.3 %
1.5	5.7 %	7.9 %
2	4.0 %	8.6 %
2.5	7.9 %	11.0 %
3	11.0 %	14.1 %
3.5	15.4 %	15.9 %
4	20.7 %	12.8 %
4.5	8.0 %	11.0 %
5	4.6 %	3.0 %

En ambos métodos, la mayor frecuencia prácticamente es la misma, presentándose entre 2.5 y 4.5, pero en el método de la vagina artificial, hay una tendencia a cifras altas en el extremo de 0, cosa que no sucede en el método eléctrico.

En resumen, comparando los resultados obtenidos en la sierra por los 2 métodos y los que dan Milovanov (6) y McKenzie (7) para bajas alturas, tenemos:

<i>Mayor frecuencia</i>	<i>Costa</i>	<i>Sierra</i>	
	<i>vagina art.</i>	<i>Vagina art.</i>	<i>Eyacuación eléctrica</i>
Volumen	1.0 c.c.	0.3 a 0.6 c.c.	1.0 a 1.7 c.c.
pH semen puro	6.3 a 6.9	6.3 ,, 7.4	6.6 ,, 7.0
pH semen diluido	6.7 ,, 6.9	6.7 ,, 7.2	————
Nº espermios c.c.	1,000 millones	1,000 a 5,000	1,000 a 2,000
Motilidad semen puro	4 a 5	3 ,, 4	2.5 ,, 4.5
Motili. semen diluido	4 a 5	3 ,, 5	————

Como vemos, por el método eléctrico, se obtiene un semen con caracteres muy semejantes al de la costa, pero, creemos que esta constancia es debida más que todo, a la naturaleza del estímulo. En la eyacuación eléctrica, no es necesario la excitación sexual del animal y al aplicar la corriente, no sólo se estimulan los centros lumbares, sino todo el sistema nervioso central. El animal presenta una contracción tónica generalmente de su sistema muscular acompañada de parálisis respiratoria y fuerte hipertensión arterial. Terminado el paso de la corriente eléctrica, se le encuentra disneico, cianótico, con intensa salivación y con parálisis del tronco posterior, que desaparece entre los 5 y 10 minutos siguientes. Cuando el estímulo es demasiado fuerte (más de 30 voltios),

se puede producir la muerte del animal, como lo hemos observado en 2 casos en los que terminada la excitación, los animales presentaron una hemoptisis, muriendo 1 a 2 minutos después. A la autopsia se encontró ruptura de las venas pulmonares y los pulmones llenos de sangre. Gunn y nosotros en la costa, empleamos excitaciones hasta de 60 voltios, sin tener accidentes, pero la eyaculación eléctrica es demasiado traumatizante y excita tan dispersamente al sistema nervioso central, que se puede apreciar, fuera de los fenómenos de parálisis respiratoria, contractura tónica del sistema muscular, etc., eyaculaciones con efeción, sin erección, con retracción del pene, con proyección del semen o estancamiento en el canal uretral, con o sin retracción del escroto, etc., lo que explicaría las peculiaridades del semen obtenido; a parte de los cambios químicos que los fenómenos asfícticos pueden producir.

En vista de las diferencias entre los resultados vagina artificial y eyaculación eléctrica, nosotros creemos:

- 1.—Que el método de la vagina artificial es aconsejable por acercarse más a la eyaculación natural.
- 2.—Que en el método eléctrico, la eyaculación normal, es reemplazada por un fuerte estímulo de los centros eyaculadores de la médula, que se deshorda a las zonas vecinas y aún produce reflejos respiratorios y cardíacos.
- 3.—Que para estudiar la aclimatación desde el punto de vista de la reproducción, se debe emplear el método de la vagina artificial por acercarse más a los hechos biológicos naturales.
- 4.—Que el empleo de la eyaculación eléctrica, en el estudio de la aclimatación, puede conducir a errores, pues pasa por alto los mecanismos naturales de la libido y de la eyaculación.

Es por estas consideraciones que aceptamos los resultados de la vagina artificial, como semejantes a los que se obtiene en la eyaculación natural fijando así, las características más frecuentes del semen en la altura, que son:

Volumen	0.3 a 0.6 c.c.
pH del semen puro	6.3 „ 7.4 c.c.
pH del semen diluído	6.7 a 7.2 c.c.
Nº. de espermatozoides 1.000 a 5,000 millones por c.c.	
Motilidad semen puro	3 a 4
Motilidad semen diluído	3 „ 5

No todos los semenes se ajustan a estos caracteres y muchas veces, una misma muestra no los reúne todos, Su frecuencia de variabilidad aparece en el cuadro siguiente:

V A R I A C I O N E S

CARACTERES	Mínimas	Porcentaje	Más frecuentes	Porcentaje	Máximas	Porcentaje
Nº. espermios (millo- nes por c.c.) . . .	800 a 1.000	7.2	1.001 a 5.000	84.7	5.001 a 7.600	8.1
Volumen en c.c. . . .	0.1 "	14.6	0.3 "	47.4	0.7 "	38.0
pH semen puro . . .	5.4 "	12.75	6.3 "	66.25	7.5 "	21.0
Motilidad semen puro	0 "	40.3	3 "	47.1	4.5 "	12.6
pH semen diluido . .	6.1 "	13.0	6.7 "	80.5	7.3 "	6.5
Motilidad diluido . . .	0 "	16.8	3 "	83.2		

Las variaciones máximas, salvo el pH, no son nocivas para la actividad espermática, de manera que desde el punto de vista práctico o de utilización del semen, la frecuencia se podrá agrupar:

<i>Caracteres</i>	<i>Rechazados</i>	<i>Aceptados</i>
Nº. espermios	7.2 %	92.8 %
Volumen	14.6 %	85.4 %
pH semen puro	33.75 %	66.25 %
Motilidad semen puro	40.3 %	59.7 %
pH semen diluido	19.5 %	80.5 %
Motilidad semen diluido	16.8 %	83.2 %

Es decir, sobre el total de semenes puros examinados, el 92.8 % presenta buena concentración, pero sólo en el 66.25% el pH es adecuado, bajando aun el porcentaje utilizable, a 59.7% por insuficiente motilidad. Al diluir estos semenes, el porcentaje del pH, sube a 80.5 % y por su motilidad a 83.2%.

En resumen, lo característico del semen en la altura, comparándolo con el de la costa es:

- 1.—Hay mayor concentración espermática con disminución de la motilidad.
- 2.—El volumen está disminuido.
- 3.—Hay variaciones más amplias del pH.
- 4.—Por la acción del dilutor se tampona el pH y aumenta la motilidad.

Insistimos que estas observaciones son expuestas a título preliminar.

II.—Estudio de la oveja.

En 1941, iniciamos el estudio de la oveja, trabajando con un lote de 100 animales cruzados, consideradas como "machorras", porque en 2 años consecutivos no habían tenido crías.

Por el examen genital (aspecto del cuello uterino), las pudimos clasificar en 3 grupos:

- a) 27 borregas multíparas
- b) 47 borregas nulíparas
- c) 26 borregas con lesiones anatómicas del aparato genital que no permitían individualizar el cuello.

Este examen nos permitió también demostrar un enorme porcentaje de infecciones vaginales; el 77% de las borregas multíparas tienen infecciones evidentes. En las borregas nulíparas, el 76%. Al probar la permeabilidad del tracto genital, inyectando aire a presión por el cuello uterino y auscultando el abdomen para cerciorarse del paso del aire, encontramos 15 animales con impermeabilidad, las que nos permitió dividir las en 2 grupos:

A.—Grupo con alto porcentaje de infecciones vaginales y permeabilidad genital.

23 borregas multíparas

36 borregas nulíparas

—

59

B.—Grupo con impermeabilidad e infección vaginal y lesiones anatómicas del aparato genital.

4 borregas multíparas

11 borregas nulíparas

26 borregas con lesiones anatómicas

—

41

Por esta clasificación podemos asegurar que de las 100 borregas, 41 son realmente estériles, pero más que por trastorno ovárico, por sus lesiones vaginales e impermeabilidad que cortan la continuidad del tracto genital. Y pensamos así, porque en los 2 grupos encontramos los ciclos sexuales normales, presentándose el celo con mayor frecuencia cada 17 días. Dudando de la infertilidad del grupo A, hicimos un ensayo de inseminación artificial, que como veremos en el próximo capítulo, demostró que los animales de este grupo eran perfectamente fértiles.

El celo.

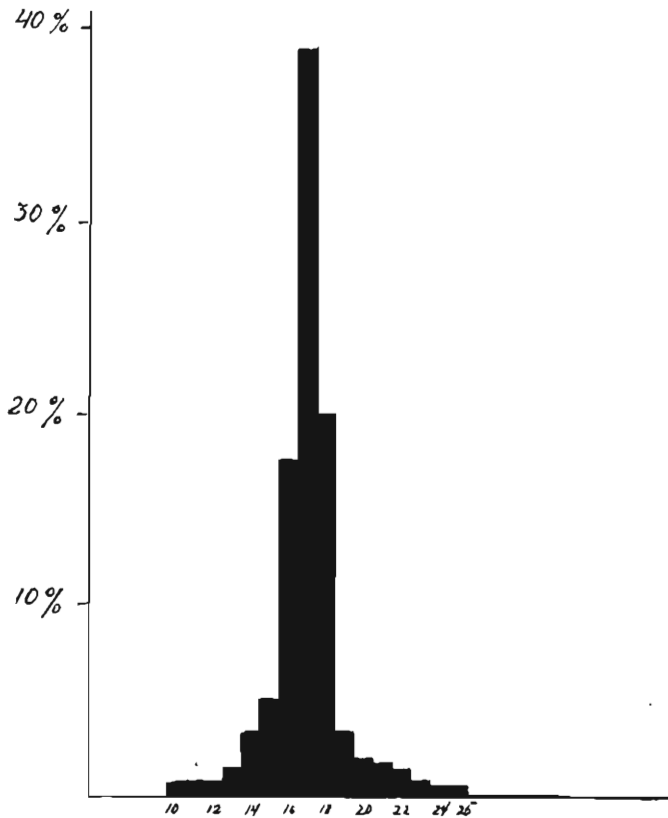
El celo se caracteriza por que la borrega acepta al macho, encontrándose la vagina congestionada y humedecida por una secreción hialina, siendo muy abundante en la mayoría de los casos. Hemos hecho durante 90 días, frotis vaginal a un lote de 50 ovejas no encontrando una reacción típica del celo. Verdad que disminuye notablemente la cantidad de leucocitos pero no en forma tan manifiesta como en las ratas, que permite afirmar el momento que el animal entra en celo. Lo

que si es característico del celo en las borregas es la secreción hialina que no se encuentra en los otros períodos.

Respecto a la duración del celo, hemos visto que generalmente es más largo en los animales "chuscos", comparándola con la duración en los finos y cruzados. La mayor frecuencia para los "chuscos" es de 24 a 48 horas y en los finos y cruzados menos de 24 horas.

Ciclos Sexuales.

*Frecuencia del celo
Mayo - Junio - Julio*



*Nº de determinaciones 960
Escala: 10 a 25 días*

GRAFICA Nº 11

Como se ve en el 76.8% se presenta celo cada 16 o 18 días siendo más frecuente cada 17 días. Las variaciones extremas van del día 10 al 25. (Gráfica N^o. 11).

No hemos podido hacer un estudio seriado de los ciclos sexuales durante todo un año; todo hace suponer por nuestros trabajos realizados en varias haciendas en épocas diferentes, que el celo en las borregas no se presenta durante todo el año sino que sigue una marcha cíclica. Teniendo un "gran período de celo" principalmente en los meses de mayo, junio y julio y un "pequeño período" en el mes de octubre. Debemos advertir que estas observaciones las hemos hecho en animales finos y cruzados no teniendo ninguna experiencia en "chuscos". En realidad este capítulo necesita más sistemática investigación.

Con respecto a los ciclos sexuales de borregas recién llegadas a la altura, últimamente hemos estudiado en la costa un lote de 50 borregas traídas de Magallanes, encontrando que presentaban ciclos sexuales normales desde abril, fecha de su llegada al Callao, hasta mediados de julio que las movilizamos a Huancayo. Desde esa fecha, no han vuelto a presentar celo hasta el último mes de marzo, es decir en un período de 8 meses. Verdad que la época en que se movilizaron corresponde al período de "reposo" pero lo que llamó la atención es la supresión brusca del celo, cuando la regla es que a partir de julio vaya disminuyendo el porcentaje diario hasta ser nulo a fines de agosto. Además, no presentaron celo en el "pequeño período" que corresponde a Octubre.

En resumen por el estudio de la oveja, sólo podemos decir:

- 1.—Que en los casos de infertilidad en la oveja aclimatada, se ha encontrado lesiones que alteran la continuidad del tracto genital, siendo potencialmente fértiles.
- 2.—Que es necesario un estudio seriado sobre los ciclos sexuales para fijar su periodicidad.
- 3.—Que se debe hacer un estudio hormonal de las borregas recién llegadas a la altura, para determinar las alteraciones de sus ciclos sexuales.

III.—Ensayos de inseminación artificial!

Estos trabajos no son los primeros que se realizan en el Perú. Tenemos noticias, de ensayos anteriores a los nuestros sin resultados aparentes. Es importante anotar, que estos trabajos de inseminación artificial en la altura, son los primeros que se llevan a cabo.

Antes de exponer los resultados obtenidos, debemos advertir que la selección de las borregas tituladas "machorras", se hizo por los hacendados, seleccionando aquellas que suponían infértiles por no tener crías. En el resto del trabajo, la desconfianza del ganadero ante un método de resultados desconocidos para ellos, restó colaboración, así, en los ensayos de los años 1940 a 1943, tuvimos que emplear ovejas inaparentes para un trabajo experimental. A partir de 1943, ante hechos que prometían un rendimiento económico evidente, se llegó a facilitarnos los animales más preciados: borregas importadas.

Respecto a los machos y posiblemente por el interés de conocer su grado de fertilidad, contamos con mayores facilidades, utilizando en todos los trabajos, carneros de pedigree importados.

a.—*Inseminación de borregas "machorras"*

Con un lote de 59 borregas "machorras" del que nos ocupamos en el capítulo anterior hicimos un ensayo de inseminación artificial, usando 4 machos seleccionados de un grupo de 15 animales. Empleamos el método vaginal para la recolección de semen y la inseminación se hizo con semen puro y dentro de los 10 minutos siguientes a su recolección.

Resultados:

Inseminadas	59
Preñadas	51
Porcentaje de natalidad	86.4 %

b.—*Inseminación con semen diluido y en el mismo lugar de recolección.*

1.—En 1941, aprovechando la visita al Perú del Prof. F. Mc Kenzie, de Utah University, se hizo en la Hacienda "Laive" a 4.000 metros sobre el nivel del mar, el primer ensayo de inseminación artificial con semen diluido y conservado hasta un máximo de 6 horas. Estos trabajos, más que todo fueron de aprendizaje para un grupo de ingenieros agrónomos y médicos veterinarios destacados por instituciones oficiales y particulares y para el personal del Instituto. A nosotros, nos correspondió hacer el control del semen y demostraciones sobre el mismo, a todo el grupo de observadores, quienes se encargaban de la inseminación.

Resultados:

Inseminadas	380
Preñadas	98
Porcentaje de natalidad	28 %

Este resultado se puede considerar como bastante halagador, en vista que fué hecho por un personal sin experiencia alguna.

- 2.—En 1943, en la misma hacienda "Laive" se inseminó con semen diluido, en 2 ciclos sexuales seguidos, borregas importadas con un mínimo de 16 meses de estada en la sierra y borregas finas nacidas en la altura.

Resultados:

	<i>Importadas</i>	<i>Nacidas en la altura</i>
Inseminadas	141	240
Preñadas	101	178
Porcentaje de natalidad	71.63 %	74.16 %

Estos resultados, especialmente los logrados en borregas importadas se puede considerar de primer orden, pues con empadres naturales es difícil en este tipo de borrega, obtener porcentaje de natalidad que pase del 60%.

- 3.—En 1944 en las haciendas "Laive", "Acopalca" y "Corpacancha" se realizó una experiencia en mayor escala, pero no buscando altos porcentajes en lotes pequeños como los años anteriores, sino por el contrario, trabajando con lotes grandes de borregas y número reducido de machos finos. Se procuró inseminar por una sola vez a todas las borregas que presentaban celo en un período de 8 días. La finalidad de este trabajo era ver si la inseminación artificial tenía una aplicación práctica y si sus resultados eran económicamente aceptables. Sólo se inseminó en un período de 8 días y no en todo un ciclo sexual, porque la gran concentración de animales en el lugar de la inseminación terminó con el pasto en esa zona, e intentar prolongar el tiempo de trabajo, significaba debilitar al animal por falta de alimento o traumatizarlo, obligándolo a caminar diariamente una gran distancia para traerlos al galpón.

Resultados:

<i>Hacienda</i>	<i>Nº. borregas</i>	<i>Nº. de inseminadas</i>	<i>Porcentaje de natalidad</i>
"Laive"	2000	1,642	43.17 %
"Acopalca"	2000	2,232	38.50 %
"Corpacancha"	1200	576	36.52 %

Debemos llamar la atención, que en este trabajo sólo se empleó 30 machos y que para obtener el mismo número de crías por empadre natural, son necesarios por lo menos 180 reproductores en otros términos que si asignamos a cada reproductor un valor numérico de S/. 1,000.00, llegamos a la conclusión que con S/. 30,000.00 el método rindió el mismo resultado que con S/. 180,000.00.

Además, un hecho importante es que en la hacienda "Corpamarca", se inseminó aproximadamente la mitad de las borregas con carneros recién llegados y seleccionados de un grupo de 30 animales. El porcentaje de natalidad en este grupo fué semejante al que se inseminó empleando sémenes de carneros con más de un año de aclimatación en la sierra.

c.—Inseminación con semen diluido y conservado, remitido a distancia.

En 1942, tomando como centro de recolección de semen el laboratorio de Huancayo, realizamos los primeros ensayos de inseminación a distancia.

a.—Hacienda "Consc".

Distante 130 kilómetros de Huancayo y a una altura de 4,000 metros sobre el nivel del mar.

Para este trabajo, se recogió el semen a partir de las 4 p. m., principiando inmediatamente a bajarle su temperatura, para llegar a 0°, entre las 8 y 10 p. m. En este período se realizó el control de la calidad del semen. Terminado el enfriamiento, se acondicionaba en termos con hielo y al día siguiente, a las 6 a. m., era despachado por el Ferrocarril Central a la estación de Pachacayo, de donde por medio de camiones se le movilizaba a la hacienda, llegando entre 11 a. m. y 1 p. m., utilizándolo inmediatamente.

La motilidad del semen, con todo el traumatismo a que estaba sujeto, disminuyó un 30% y en muy pocas muestras la disminución fué hasta de 50%.

Las borregas que utilizamos eran "rebajadas" o de camal, por límite de edad y defectos físicos o patológicos. Como índice de su ínfima calidad tenemos el porcentaje de mortalidad de 6%, que se presentó en el período correspondiente a la gestación.

La inseminación se hizo en 3 ciclos sexuales, llamando la atención desde un principio, el número elevado de animales que repetían el celo:

	<i>Primer celo inseminadas</i>	<i>Segundo celo reinseminadas</i>	<i>Tercer celo reinseminadas</i>
Nº borregas	646	577	463
Porcentaje	100 %	89.3 %	74.7 %

El porcentaje de natalidad sobre el total de 646 borregas inseminadas fué de 3%.

Es evidente que el viaje en ferrocarril luego en camión, el tiempo necesario para proceder a la inseminación, las fallas que pudieron presentarse por equivocaciones y en fin, la calidad ínfima de las ovejas, multiplicaron las causas de error en la investigación. Nos limitamos honestamente a dejar constancia informativa de estos hechos.

b.—Hacienda Cochas.

En esta hacienda, a 8 kilómetros de Huancayo y con 200 metros de desnivel, se hizo un ensayo semejante al de Consac, utilizando sémenes de los mismos carneros, pero con 3 a 4 horas menos de conservación y abarcando el período de inseminación, sólo dos ciclos sexuales.

Las borregas que utilizamos, fueron de mejor calidad que en la hacienda "Consac", pues eran en su mayor parte, borreguillas, o sea, animales de 18 meses que aún no habían sido fecundados. El semen se movilizó en camioneta.

El porcentaje de natalidad sobre 180 animales inseminados fué de 65.4%.

c.—Hacienda Acopalca.

En 1943, en vista de los resultados tan contradictorios de los ensayos anteriores y buscando su explicación, se realizó en la hacienda "Acopalca", distancia 30 kilómetros de Huancayo y a 4,000 metros de altitud, un trabajo experimental con sémenes diluidos y transportados en diferentes condiciones, pero todos con un tiempo de conservación de 6 horas.

Las borregas facilitadas no reunían condiciones aparentes para un trabajo experimental, pues era un lote heterogéneo de borreguillas, borregas viejas, defectuosas y "machorras" del empadre anterior. Al azar las dividimos en 2 lotes de 100 animales cada uno y las inseminamos durante dos ciclos sexuales.

Resultados:

- 1º lote: inseminadas con semen transportado en tubos abiertos.
Porcentaje de natalidad 48.48 %.
- 2º lote: inseminadas con semen transportado en tubos herméticamente cerrados.
Porcentaje de natalidad 61.76 %.

Como vemos, la descompresión brusca del semen al cambiarlo de nivel (900 metros) no es un factor que lesione al espermatozoide, sino por el contrario, da porcentajes más altos que el semen movilizado en tubos abiertos.

Ensayo de fertilidad.

Aunque propiamente este trabajo no corresponde al capítulo de inseminación artificial, lo colocamos como un anexo para facilitar su comprensión.

Hemos hecho en 1944, una "monta a mano" en la costa, de 35 borreguillas recién llegadas de Magallanes, con machos recién llegados, que se habían recuperado de la azoospermia producida por el viaje. Un mes después de terminado el empadre, se movilizaron los animales a Huancayo. El resultado fué de 22% de fecundidad, sin considerar en esta cifra, un aborto que se presentó dos días después del viaje.

Queremos dejar constancia informativa de este fenómeno, que necesita una mayor investigación.

CONCLUSIONES

Por nuestras observaciones, que insistimos son a título preliminar, podemos decir:

- 1.—Que el semen del carnero aclimatado a la altura, tiene características propias, diferentes de las del carnero de la costa.
- 2.—Que en los casos de infertilidad de la oveja aclimatada a la altura, esta se debe a lesiones que cortan la continuidad del tracto genital.
- 3.—Que en la aclimatación del carnero a la altura, se presentan alteraciones en el semen, que no son semejantes a las que se obtienen con traslados a un mismo nivel.
- 4.—Que es necesario un estudio hormonal de la oveja recién lle-

gada a la altura, para determinar las alteraciones de su ciclo sexual.

- 5.—Que la inseminación con semen recogido en el mismo lugar, por lo resultados obtenidos, se puede emplear como un método práctico.
- 6.—Que la inseminación con semen movilizado a distancia, debe ser objeto de una mayor investigación.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—*M. San Martín*.—Problema de los dilutores de semen en la altura. — Anales de la Facultad de Ciencias Médicas. Tomo XXV N^o. 1.
- 2.—*Gunn R. M. C.* *Fertility in Sheep*.—Artificial Production of Seminal Ejaculation and the Characters of the Spermatozoa contained there in. Austral. Council for Sci. and. Indus. Res. Bul. 94.
- 3.—*M. San Martín y Carlos Monge*. (An. Facult. Méd. Lima.— 1er. trimestre 1945).
- 4.—*Carlos Monge y M. San Martín*.—Nota sobre azoospermia de carneros recién llegados a la altura. Anales de la Facultad de Ciencias Médicas. Tomo XXV N^o. 1.
- 5.—*M. San Martín y J. Atkins*.—Estudios sobre la fertilidad del ganado lanar en la altura. Anales de la Facultad de Ciencias Médicas. Tomo XXV N^o. 1.
- 6.—*Milovanov. V. K.*—Principios de inseminación artificial (en ruso). Casa de Gob. Pub. para Hdas. Colec. y Soviéticas. Moscú y Leningrado. Lambert. W. V. y Fred McKenzie.
- 7.—La inseminación artificial en la crianza de animales. Traducción de la circular N^o. 567 del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.