

## PROCESO DE COLECTA Y CONSERVACIÓN DE SEMEN DE UN TORO (BROWN SWISS) CANTÓN TULCÁN, PROVINCIA DEL CARCHI-ECUADOR

Artículo Original

COLLECTION AND CONSERVATION PROCESS OF SEMEN FROM A BULL (BROWN SWISS) CANTÓN TULCÁN, PROVINCE OF CARCHI-ECUADOR

Almeida, J.; Jácome, G.; López E.; López F.; Mina K.; Paredes, R., Pozo J. <sup>1</sup>; Balarezo, L. <sup>2</sup>

Recibido: 16/08/2021 · Aceptado: 14/10/2021

### RESUMEN

El uso de pajuelas para inseminación ha permitido aumentar la tasa de preñez en la especie bovina. El presente estudio tiene como objetivo evaluar la eficiencia del diluyente para la conservación de semen bovino. Para llevar a cabo la investigación se analizó parámetros como son, aptitud reproductiva del macho, evaluación funcional de la libido, prueba de capacidad de servicio, recolección del semen, evaluación macroscópica y microscópica del eyaculado.

El semen obtenido presentó color blanco cremoso, densidad lechosa y olor a yema de huevo, además se observó alta densidad, motilidad y movilidad de las células espermáticas.

El diluyente más el semen dio un volumen de 17,5 mL, procesándose 35 pajuelas de 0,5mL, las que fueron almacenadas en nitrógeno líquido. A fin de evaluar la viabilidad de las pajuelas, se descongeló una de ellas y se observó al microscopio el nivel de espermatozoides viables, determinándose que las pajuelas son óptimas para inseminación artificial.

*Palabras clave:* Inseminación, Criopreservación, Semen, Pajuela, Diluyente, Motilidad, Movilidad, Espermatozoides.

### ABSTRACT

The use of straws for artificial insemination has allowed to increase the pregnant rate in bovine specie. The present study has as purpose evaluate the efficiency of diluent for seminal bovine conservation. To bring about the investigation has analyzed parameters has, reproductive aptitude of male, functional evaluation of libido, capacity test of service, seminal collection, macroscopical and microscopical evaluation of ejaculated. The collected semen, has creamy with color, milky density and egg's smell, in addition were observed high density, motility and movility of spermatic cels. The diluent plus semen has a volume of 17,5 mL, procesating 35 straws of 0,5mL, that were stored in liquide nitrogen. For evaluate straw viability, it thawed one of this and were observed to microscope the viable sperm, determinated that straws are optimal for artificial insemination.

*Keywords:* Insemination, Criopreservation, Semen, Straws, Diluent, Motility, Movility, Sperm

<sup>1</sup> Maestría en Producción de Rumiantes, primera cohorte, Universidad Politécnica Estatal del Carchi, Carchi- Ecuador  
<sup>2</sup> Universidad Politécnica del Carchi. Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales. Tulcán Carchi, Ecuador  
luis.balarezo@upec.edu.ec

## 1. INTRODUCCIÓN

A través del tiempo, la mejora genética en la actividad pecuaria ha cobrado gran importancia, por cuanto se han ido suscitando diferentes tipos de biotecnologías, en el campo de la reproducción. Una de ellas es el uso de semen criopreservado y la posterior inseminación artificial del ganado.

Cabe mencionar además, que el uso de la biotecnología reproductiva, permite el mantener la biodiversidad, evitando problemas de carácter consanguíneo. En este punto vale recalcar que la FAO, desarrolló la Estrategia Global para los Recursos Genéticos de Animales de Granja, con la idea de conservar los recursos genéticos de Interés Agroalimentario.

Los procesos de criopreservación de espermatozoides, han tenido un avance significativo, desde la década de los 40 hasta la actualidad. En estas décadas, se han realizado profundos estudios en cuanto a la fertilidad y viabilidad espermática, fundamentalmente en bovinos. De allí que el desarrollo del ganado lechero, se ha visto directamente relacionado al avance tecnológico de la inseminación artificial y la selección de genes de interés productivo (Giraldo, 2007).

A pesar de los intentos por establecer curvas estándar para los procesos de congelación y descongelación; parámetros como el diluyente, el crioprotector usado y tamaño del sistema de empaque no han permitido establecer un método único de criopreservación.

La calidad del semen congelado es menor en comparación a la del semen fresco o refrigerado. Debido a que los espermatozoides se ven afectados a nivel bioquímico y estructural, disminuyendo su capacidad de fertilización; los daños responden principalmente a cambios osmóticos y formación de hielo intracelular. Con el objetivo de disminuir los daños por congelación suelen emplearse crioprotectores, entre los que destaca el glicerol, que disminuye la formación de hielo intracelular, al deshidratar la célula por mecanismos de difusión simple. Sin embargo se ha de destacar que su uso debe ser controlado ya que pueden llegar a causar daños osmóticos en la célula (Almenar, 2007).

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para una correcta recolección de semen se debe manejar medidas de asepsia durante todo el proceso, incluso desde la preparación del toro hasta el almacenamiento de la pajuela.

### *Preparación del toro.*

Al toro Brown Swiss seleccionado, se le evaluó condición corporal y planes de manejo de vacunación y sanidad, posteriormente se procedió a cortar el pelo del orificio prepucial a unos 2cm y lavó minuciosamente con detergente.

### *Preparación de la vagina artificial.*

La vagina artificial (VA) fue limpiada asépticamente y posteriormente armada, para la recolecta se llenó la cavidad con agua a 37°C y en el interior del cuerpo del aparato se colocó lubricante estéril.

### *Toma de muestra.*

Con la ayuda de una vaca en celo se estimula al macho. En el momento de la monta el operario con guantes estériles, desvía el pene hacia la VA, donde por acción de temperatura y presión se genera la eyaculación y se recolecta la muestra en un tubo estéril que se encuentra al final del cono de la VA.

### *Transporte y análisis de la calidad del semen.*

La muestra se transportó protegida de la luz, y se evaluó en el laboratorio parámetros como el color, motilidad, morfología y concentración de la misma con la ayuda de un microscopio óptico.

### *Análisis de la calidad del semen.*

En laboratorio se realizó la evaluación macroscópica del semen, para esto se colocó la muestra en baño María a 37°C determinándose un volumen del eyaculado de 3 mL

Además se analizaron parámetros físicos, siendo el olor a yema de huevo, color blanco, densidad lechosa y aspecto homogéneo.

Las características microscópicas evaluadas en el semen fueron: motilidad masal y motilidad individual.

### *Preparación de las pajuelas.*

En una cámara de flujo laminar se preparó el diluyente mezclando 20 cc de Triladyl concentrado con 60 cc de agua bidestilada en un matraz graduado. Se separó la clara de la yema de huevo y se colocó la yema sobre papel filtro con el fin de eliminar la membrana que la cubre. Se tomó 20 cc de la yema de huevo y se mezclan con el Trilady y el agua bidestilada anteriormente preparados en un frasco boeco esteril, agitando con una varilla de vidrio evitando la formación de espuma

Al volumen de 3 cm de semen se le añade el diluyente en una relación 1:1, posteriormente se tiñe con colorante rojo para diferenciar las pajuelas del macho utilizado.

Posteriormente se procede a colocar en un pocillo de plástico la muestra preparada, en la parte superior se colocó las pajuelas y se absorbió con la ayuda de una bomba, se eliminó un volumen de muestra de la pajuela para generar vacío dentro de la misma, posteriormente se selló el extremo con una esfera selladora y se almacenó en refrigeración a 5°C por una tres.

Finalmente se colocó las pajuelas en la rampla de congelación del tanque de nitrógeno líquido a una altura de 5cm para evitar el contacto directo con el nitrógeno, por un tiempo de 9 a 10 minutos hasta alcanzar  $-110^{\circ}\text{C}$ , luego de este tiempo se introducen completamente en el tanque donde permanecerán a una temperatura de  $-196^{\circ}\text{C}$ , hasta ser utilizadas.

### Análisis de motilidad masal de la majuela

Se retiró una pajuela del tanque de nitrógeno y se descongeló a baño María a  $37^{\circ}\text{C}$  por 30 segundos.

Se tomó una gota de semen fresco y se colocó en una lámina portaobjetos, y se observó directamente al microscopio BOECO BM-120 con objetivo de 40X.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros recomendados por (Morillo, Salazar, & Castillo, 2012), son aptitud reproductiva del macho, recolección y evaluación macro y microscópica del semen, dilución y congelación de semen.

### 3.1. Aptitud reproductiva del macho.

La determinación de la aptitud reproductiva de un macho bovino, se basó en la evaluación del estado general de salud del animal, (órganos genitales externos e internos), evaluación funcional de la libido y prueba de capacidad de servicio.

#### 3.1.1 Evaluación del estado general de salud del animal, (órganos genitales externos e internos).

De los parámetros señalados por Morillo et al., (2012), se realizaron los detallados en la

Tabla 1. Datos del toro seleccionado para la obtención de la muestra de semen. Fuente: Finca Las Peñas

Parámetro	Detalle
Nombre	Alex
Raza	Brown Swiss
Fecha de nacimiento	2016/10/13
Edad	2 años y 1 mes
Peso	320 kg
Circunferencia escrotal	28 cm
Volumen eyaculado	3 mL
Condición corporal	3
Desparasitaciones	1 cada mes
Vacunas	1. Calostro 2. Fiebre aftosa 3. Virus la Kater master 4. Triple
Enfermedades	Ninguna
Primer servicio	Ninguno

El reproductor seleccionado presentó una apariencia masculina característica, que según (Paez & Corredor, 2014), está relacionada con los niveles de testosterona, agresividad en su comportamiento y desarrollo de los órganos sexuales.

La Condición Corporal (CC) determinada fue de 3.0 en relación a la escala de 1 a 5 (1 = flaco, 5 = obeso), de (Grijera & Bargo, 2015). De acuerdo a (Páez & Corredor, 2014), el valor recomendable de CC debe ser de 3 a 3.5, representando los extremos problemas de fertilidad.

El toro presentó buena condición en espalda, patas y aplomos en dirección normal y pezuñas sin lesiones. “Los problemas de las patas genéticamente transmitidos, como sentado de garrones o pezuñas defectuosas, deben ser fuertemente castigados y serán causa más que suficiente para que el toro no pase el examen”. (Larson, 2007).

El sistema ocular se encontró en perfectas condiciones, ya que respondió adecuadamente a la presencia de obstáculos durante el transporte del área de pastoreo al lugar de la colecta.

Para Morillo et al., (2012) es necesario que se realice en el pene una evaluación anatómica de heridas, traumas, inflamaciones, y una evaluación funcional, como el análisis de la erección y reintroducción, y en el prepucio lesiones, fimosis, estenosis o secreciones. Durante la protrusión del pene no se detectó ninguno de los problemas señalados. En el escroto la presencia de heridas y cicatrices fue nula, presentando buen tamaño testicular, simetría y consistencia turgente y elástica (Figura 1).



FIGURA 1. Evaluación externa de los órganos reproductores del macho.

Las tres fracciones de los epidídimos, cabeza, cuerpo y cola, no se evaluaron en esta práctica, sin embargo, la importancia de este examen radica ya que aquí se da la maduración y activación de los espermatozoides (Paez & Corredor, 2014).

La circunferencia escrotal alcanzó los 28 cm, siendo adecuada para la colecta de semen. De acuerdo a Pérez, et al., 2014.,

machos con 24 a 32 cm de circunferencia escrotal son aptos para donar semen.

No se realizó la evaluación de los órganos genitales internos sin embargo es necesario realizar este proceso en uretra pelviana, próstata, vesículas seminales y ámpulas del conducto deferente para complementar la evaluación del estado general de salud del animal. (Larson, 2007)

### 3.1.2 Evaluación funcional de la libido y prueba de capacidad de servicio.

El reproductor evaluado se encuentra dentro del grupo 1, que según Páez & Corredor (2014), corresponde a aquellos toros que sirven satisfactoriamente. El macho reaccionó al estímulo colocado (vaca en celo), realizó el reflejo de flehmen e intentó inmediatamente la monta, sin embargo, se realizó 2 montas faltas con un receso de 2 minutos., para posteriormente realizar la monta final para la colecta del semen.

### 3.2. Recolección y evaluación macro y microscópica del semen.

Se utilizó el método para fisiológico de la vagina artificial, realizando dos montas falsas con un periodo de 2 minutos de restricción antes de colectar el eyaculado, y finalmente en la monta verdadera se desvió el pene, con la palma de la mano para lograr colectar el eyaculado en la vagina artificial. La monta falsa (vaca en celo) en el bovino aumento la calidad del semen en cuanto a volumen, concentración espermática y motilidad. (Porrás & Paramo, 2009)

#### 3.2.1. Área de trabajo y recolección del semen

El área debe contar con piso sólido y anti resbalante, defensas de seguridad y un ambiente de trabajo acorde con la actividad (evitar ruidos y distracciones), para la recolección del eyaculado.

Luego de obtener el eyaculado se transportó inmediatamente al laboratorio, protegiéndolo de la luz solar directa, cambios bruscos de temperatura y contaminación. (Morillo et al., 2012)

#### 3.2.2. Evaluación de semen

El color fue una de las características que se analizó, la muestra recolectada presentó un color blanco, densidad lechosa y aspecto homogéneo, de acuerdo a la Tabla 2.

Tabla 2. Relación entre el color de semen recolectado y su concentración en número de espermatozoides por milímetro cúbico (mL).

Color	Nº de espermatozoides (esp)
Blanco cremoso	≥1000000 esp/mL
Blanco lechoso	800000-600000 esp/mL
Blanco acuoso	≤50000 esp/mL

Fuente: Morillo et al., 2012

Las características microscópicas evaluadas en el semen de bovinos fueron: motilidad masal y motilidad individual.

Para la evaluación de la motilidad masal se siguió el protocolo descrito por (Páez & Corredor, 2014), observándose mediante microscopio óptico (40X) movimiento de olas en la muestra de semen, señalando que a mayor cantidad de espermatozoides mayores será la cantidad de olas observables.

Tabla 3. Clasificación de la motilidad espermática de acuerdo a la Sociedad de Teriogenología de los Estados Unidos de Norteamérica.

Fuente: (Agüero , 2012)

Motilidad	Excelente	Buena	Regular	Mala
Masal	+++	++	+	-
Individual	≥ 70%	50-70%	30-50%	≤ 30%

### 3.3. Dilución y congelación de semen

Una vez recolectado el semen bovino, considerando que la supervivencia de los espermatozoides en el plasma seminal sólo se limita a pocas horas fue necesario diluir el eyaculado con soluciones protectoras. “casi todos los diluyentes para preservar semen o congelarlo tienen yema de huevo o leche descremada o bien una combinación de esos dos ingredientes básicos” (Morillo et al.,2012).

El volumen recolectado de semen (3mL), fue mezclado con 14,5mL de diluyente, obteniéndose un contenido final de 17,5mL con el que se procesó 35 pajuelas de 0.5mL.

Al evaluar la viabilidad espermática de una pajuela postcongelación, se determinó que la misma es apta para proceso de inseminación artificial; resultados que concuerdan con lo descrito por (Robles et al., 2007).

## 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La colección de semen bovino permite el mejor aprovechamiento del macho, la observación de la conducta sexual y libido de los toros.

(Pérez, Chachón, Otero , Cardona , & Andrade , 2014) (Medina, Sánchez , Velasco, & Cruz , 2007) y congelación de semen mediante el método de VA se deben seleccionar machos que presenten características específicas que puedan transmitir a su descendencia, además contar con plan de vacunación, manejo sanitario y nutricional, que garantice un programa de mejoramiento genético mediante inseminación artificial.

Luego de la colecta se debe proteger el semen de shock térmico, contaminación, agitación y exposición al aire o luz solar directa hasta su procesamiento que no debe sobrepasar un máximo de 15 minutos luego de haberse tomado la muestra.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- Agüero, G. (Enero de 2012). Evaluación de las Características Seminales de Sementales Bovinos mediante el Analizador Seminal Computarizado (CASA). Obtenido de Evaluación de las Características Seminales de Sementales Bovinos mediante el Analizador Seminal Computarizado (CASA): [http://saber.ucv.ve/bitstream/123456789/3292/1/T026800002626-0-Tesis\\_Final\\_Gloria\\_Aguero-000.pdf](http://saber.ucv.ve/bitstream/123456789/3292/1/T026800002626-0-Tesis_Final_Gloria_Aguero-000.pdf)
- Almenar, C.(2007). Nuevos Protocolos para la Crioconservación de Espermatozoides de Macho Cabrío. Universidad Politécnica de Valencia.
- Giraldo, J.(2007). Una mirada al uso de la inseminación artificial en bovinos. Revista Lasallista de Investigación. Vol.4 No.1.
- Grijera, J., & Bargo, F. (2015). Evaluación del estado corporal en vacas. Córdoba: Consultores Elanco Animal Health.
- Larson, B. (2007). TOROS: EXAMEN SANITARIO Y DE APTITUD. Angus 08(241), 43-44. doi:<http://www.angus.org.ar/>
- Medina, V., Sánchez, E., Velasco, Y., & Cruz, P. (2007). Crioconservación de semen bovino usando un congelador programable (CL-8800) y determinación de su calidad postcongelación por medio de un sistema de análisis espermático asistido por computador (CASA). Resvista ORINOQUIA.
- Morillo, M., Salazar, S., & Castillo, E. (2012). Evaluación del potencial respoductivo del macho bovino. Aragua, Venezuela: INIA.
- Paez, E., & Corredor, E. (Julio-Diciembre de 2014). Evaluación de la aptitud reproductiva del toro. Ciencia y agricultura, 11(2), 49-59. doi:<https://doi.org/10.19053/01228420.3837>
- Páez, E., & Corredor, E. (Julio-Diciembre de 2014). Evaluación de la aptitud reproductiva del toro. Ciencia y agricultura, 11(2), 49-59. doi:<https://doi.org/10.19053/01228420.3837>
- Pérez, J., Chachón, L., Otero, R., Cardona, J., & Andrade, F. (2014). Relación entre la circunferencia escrotal, el crecimiento testicular y parámetros de calidad de semen en toros de raza Guzerat, desde la pubertad hasta los 36 meses de edad. Revista de Medicina Veterinaria.
- Porras, A., & Paramo, R. (2009). Manual de prácticas de reproducción animal. México: DCV F. Obtenido de Manual de prácticas de reproducción animal: [http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/licenciatura/coepa/archivos/manuales\\_2013/Manual%20de%20Practicas%20de%20Reproduccion%20Animal.pdf](http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/licenciatura/coepa/archivos/manuales_2013/Manual%20de%20Practicas%20de%20Reproduccion%20Animal.pdf)
- Salisbury, G., Van Demark, N., & Lodge, J. (1982). Fisiología de la reproducción e inseminación artificial de los bóvidos. Zaragoza, España: Acribia.
- Villamizar, G. (2014). Manual de procedimientos para la colecta y criopreservación de semen bovino para la empresa santa clara genética estado Paraná – Brasil. Bucaramanga, Colombia: Universidad Cooperativa de Colombia.