

## **Análisis de semen congelado- descongelado en bovinos**

*Ezequiel Etcheber; Ricardo M. Larsen; Jorge Cabodevila; María Catena*  
Fac. Cs. Veterinarias – UNCPBA \*

### **Introducción**

La evaluación del semen congelado tiene como finalidad predecir su fertilidad potencial. Si bien, ningún examen *in vitro* tiene alta correlación con la fertilidad, hay diversas pruebas de laboratorio que correctamente interpretadas, permiten estimar la calidad seminal y detectar partidas con las que no se obtendrán buenos resultados en la Inseminación Artificial (IA).

Hay que tener en cuenta que el semen congelado no es un producto uniforme dado que existe un rango de cierta amplitud entre aquellas partidas que alcanzan los valores como para ser consideradas aptas para liberar a mercado y un semen de óptima calidad. Además, la calidad seminal puede verse afectada en la etapa de distribución, si el pasaje de un termo a otro no se realiza con máxima precaución o posteriormente, durante el almacenamiento, si no se mantiene un nivel adecuado de nitrógeno líquido en el termo donde se lo conserva, o si se expone el semen en la boca de dicho recipiente por largos períodos (Catena y Cabodevila, 1999).

Teniendo en cuenta lo enunciado, es importante realizar pruebas de laboratorio para evaluar la calidad del semen congelado/descongelado previamente al desarrollo de la IA y así verificar que el semen utilizado mantenga su capacidad fecundante luego de haber sido criopreservado.

### **Objetivos**

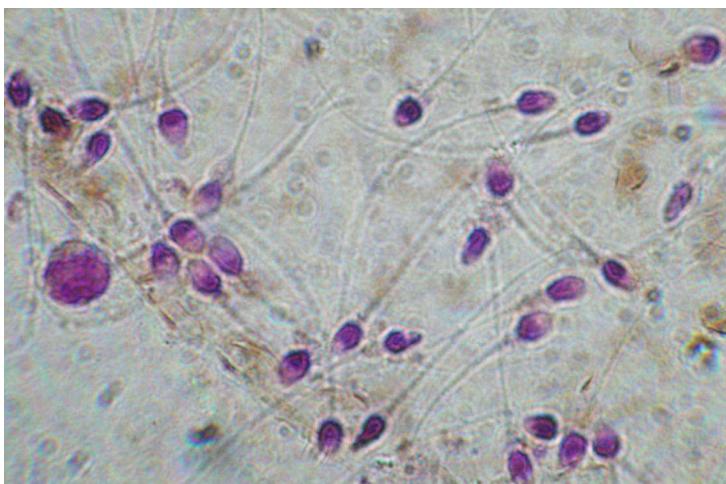
Demostrar la importancia que tiene realizar un análisis de calidad seminal previamente a ejecutar un programa de IA.

Determinar que parámetros reflejan las diferencias entre partidas de semen congelado-descongelado de distinta calidad.

### **Materiales y Métodos**

La información analizada fue aportada por un laboratorio de la actividad privada, ubicado en el centro de la provincia de Buenos Aires.

El estudio se realizó sobre un total de 147 partidas de semen congelado-descongelado, evaluadas por dicho laboratorio durante el 2009.



#### **A- Características Evaluadas:**

- 1.- Viabilidad post-descongelación.

---

\* *Resumen Tesis de Grado. Premio Syntex: Mejor tesis 2011, en la especialidad Reproducción.*  
Jurados: Dres. Gabriel Bó (IRAC y UNC) y Luzbel de la Sota (UNLP).

- 2.- Integridad del acrosoma.
- 3.- Morfología.
- 4.- Número de espermatozoides con motilidad progresiva por dosis.
- 5.- Evaluación microbiológica del semen.

**B- Criterios de Evaluación:**

Las características 1-2-3 y 4 fueron evaluadas de acuerdo a lo establecido por el Departamento de Medicina del Rodeo y Teriogenología de la Universidad de Saskatchewan, Canadá. La característica 5 se evaluó según lo establecido por el Comité para la Examinación Microbiológica de Semen de la Asociación Americana de Laboratorios de Diagnóstico Veterinario (Catena y Cabodevila, 1999).

**C- Protocolo de laboratorio utilizado (resumen):**

- a) Descongelado: baño maría a 37 °C., durante 30 segundos.
- b) Prueba de Termoresistencia: Evaluación de motilidad progresiva y vigor a la hora 0 y cada 2 horas de incubación a 37 °C. En forma complementaria se evalúa motilidad progresiva en la hora 0 en tinción de eosina con conteo de 500 espermatozoides.
- c) Evaluación de Integridad del Acrosomica y Morfología: Post descongelación y luego de las 2 horas de incubación a 37 °C., utilizando coloración vital (eosina-nigrosina) con conteo de 100 a 300 espermatozoides.
- d) Determinación de la concentración espermática en hemocitómetro

**D- Parámetros mínimos de laboratorio:**

- 1.-Viabilidad post-descongelación. (Evaluación mediante Prueba de Termoresistencia)
  - 0 h.: Igual o superior al 25 % de espermatozoides con motilidad progresiva. (Vigor 3).
  - 2 h.: Igual o superior al 15 % de espermatozoides con motilidad progresiva. (Vigor 2).
- 2.- Integridad del Acrosoma
  - 0 h.: Igual o superior al 50 % de espermatozoides con acrosomas intactos.
  - 2 h.: Igual o superior al 35 % de espermatozoides con acrosomas intactos.
- 3.- Morfología
  - 70 % de espermatozoides normales.
- 4.- Número de espermatozoides con motilidad progresiva por dosis
  - 10.000.000 de células viables por dosis. (Ideal)

En este análisis, se determinó el porcentaje de muestras que presentaron valores inferiores a los recomendados y se determinó que parámetros reflejan las diferencias entre partidas de semen congelado-descongelado de diferente calidad. A su vez, se clasificó a las dosis de semen que presentaban sólo un parámetro por debajo de los valores mínimos recomendados (VMR) y aquellas que mostraban dos o más características por debajo de los VMR. Al efecto de efectuar comparaciones estadísticas, se utilizó el paquete SAS, estableciendo un intervalo de confianza del 95% ( $\alpha$ : 5%).

**Resultados y Discusión**

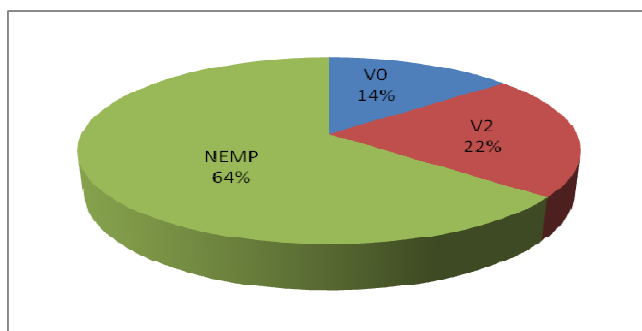
Como se puede apreciar en el Gráfico 1, de un total de 147 muestras analizadas, 31 (21,1%) no cumplieron con los requisitos recomendados por el laboratorio.

**Gráfico 1:** Distribución de las partidas de semen congelado/descongelado analizadas, según alcanzaran a no los valores recomendados por el laboratorio.



El porcentaje de partidas de semen congelado-descongelado que no alcanzaron los valores recomendados por el laboratorio resultó ligeramente superior al informado por Cabodevila *et al.*, 2005). Dichos autores, informaron 17,1% para semen proveniente de toros de razas carniceras y 20,8% para reproductores de razas carniceras. No obstante, debe señalarse que en dicho trabajo, el número de espermatozoides con motilidad progresiva por dosis recomendado, osciló entre 6 y 8 millones. Cabe señalar que Echeverría *et al.*, 2006 no observaron diferencias en el porcentaje de preñez a la IATF, entre dosis inseminantes que contenían 6, 10 y 12 millones espermatozoides con motilidad progresiva.

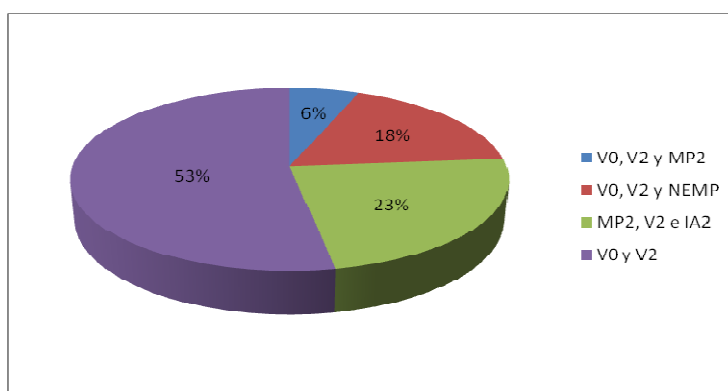
De 31 partidas que no alcanzaron los valores mínimos de referencia, en 14 (45,1%) sólo un parámetro fue el determinante de su calificación. De ellos, el número de espermatozoides con motilidad progresiva por dosis (NEMP) fue el de mayor incidencia (Gráfico 2).



**Gráfico 2:** Motivo por el cual partidas de semen congelado-descongelado no alcanzaron los valores recomendados por el laboratorio cuando sólo un parámetro fue el afectado.

En un trabajo similar, Cabodevila *et al.*, 2005 comunicaron que, en razas lecheras, el principal motivo por el cual una partida fue considerada por debajo de los valores fue el NEMP. Si bien en este trabajo, no fue posible discriminar el semen según la aptitud productiva de los reproductores, la ubicación geográfica del laboratorio, permite inferir que un parte importante del semen analizado provenía de semen, generalmente importado, que se utiliza en la Cuenca lechera Mar y Sierras.

Los motivos por los cuales, partidas de semen congelado no alcanzaron los VMR cuando 2 o más parámetros tuvieron afectados, se pueden apreciar en el Gráfico 3.



**Gráfico 3:** Motivo por el cual partidas de semen congelado-descongelado no alcanzaron los valores recomendados por el laboratorio cuando dos o más parámetros fueron afectados.

Por último, en la Tabla 1 se puede apreciar que entre partidas recomendadas y no recomendadas, excepto para la integridad acrosómica a la hora 0, se observaron diferencias significativas en todos los demás parámetros evaluados.

**Tabla 1:** X±DS de los diferentes parámetros analizados, según la calificación de la partida resultara apta o no apta. a, b (P<001)

	MP0	V0	MP2	V2	NEMP	ME	IA0	IA2
APTO	57,3 ±6,4 <sup>a</sup>	3,1 ±0,2 <sup>a</sup>	55,7 ±6,3 <sup>a</sup>	2,2 ±0,4 <sup>a</sup>	29,1 ± 13,2 x 10 <sup>6a</sup>	95,6 ±1,4 <sup>a</sup>	97,1 ± 0,8	95,9 ±0,9 <sup>a</sup>
NO APTO	53,8 ±8,0 <sup>b</sup>	2,5 ±0,6 <sup>b</sup>	42,2 ±20,5 <sup>b</sup>	1,2 ±0,8 <sup>b</sup>	18,7 ± 14,9 x 10 <sup>6b</sup>	94,9 ±1,6 <sup>b</sup>	96,9 ± 0,8	80,2 ±35,8 <sup>b</sup>

**Referencias:** MP0: Porcentaje motilidad progresiva hora 0; V0: Vigor espermático hora 0; MP2: Porcentaje motilidad progresiva hora 2; V2: Vigor espermático hora 0; NEMP: Número de espermatozoides con motilidad progresiva por dosis; ME: Porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales; IA0: Porcentaje de Integridad Acrosómica hora 0 y IA2: Porcentaje de Integridad Acrosómica hora 2.

Los resultados del Gráfico 3 y de la Tabla 1, están en concordancia con lo expuesto por Gallina y Valencia, 2006 quienes sostienen que algunas alteraciones que presentan los espermatozoides congelados-descongelados, no se hacen evidentes inmediatamente de descongelados pero sí, luego de un período de incubación de 2 h.

### Conclusiones

El análisis de semen previo a la IA permite identificar un porcentaje significativo de partidas que no alcanzan los valores mínimos de referencia.

Entre partidas aprobadas y no aprobadas, se observan diferencias en la mayoría de los parámetros analizados.