

## Comparación de la tasa de concepción en vacas Nelore utilizando implantes de progesterona

Ortiz Javier; Hinojosa Paola; Paz Oscar

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno

E-mail de contacto: [javier.ortiz.t@gmail.com](mailto:javier.ortiz.t@gmail.com)

**Resumen.** El objetivo del presente trabajo fue comparar la tasa de concepción en vacas Nelore, utilizando los implantes de progesterona PRIMER® y SINCROGEST®. Para este experimento se utilizó 930 animales, tomando en cuenta su condición corporal (CC) de 1.8 a 3.0. Se dividió en cuatro grupos, el GRUPO 1A constó de 328 a los que se implantó PRIMER® (1g) de primer uso, el GRUPO 2A con 229 animales con SINCROGEST® (1g) de primer uso. El tratamiento consistió en administrar 2 mg de Benzoato de Estradiol por vía intramuscular, junto con la inserción del dispositivo (1g) en el día 0 del tratamiento; en el día ocho se retiró el implante y se aplicó Prostaglandina 2 mg (IM), Gonadotropina Coriónica Equina 400 UI (IM), Cipionato de Estradiol 0,5 mg (IM). A las 52 horas se procedió a realizar la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF). En el GRUPO 1B (con 144 animales) se implantó PRIMER® de segundo uso y el GRUPO 2B (229 animales) con SINCROGEST® de segundo uso; estos dos grupos recibieron el mismo tratamiento que los primeros, excepto que los dispositivos intravaginales ya eran usados (segundo uso). En todos los grupos se realizó el diagnóstico de preñez mediante ultrasonografía a los 32 días post inseminación. En el GRUPO 1A, de 328 vacas implantadas una perdió implante, lo cual significó ( $p>0,05$ ) en la tasa de pérdida del implante, entonces con 327 vacas inseminadas, 163 resultaron preñadas (tasa de concepción del 50%). En el GRUPO 2A se implantó 144 vacas, ninguna perdió implante por esto la tasa de pérdida es 0, 144 fueron inseminadas, 81 resultaron preñadas (tasa de concepción del 56%). Para el GRUPO 1B, de 229 vacas implantadas, 11 perdieron implantes ( $p<0,05$ ), 218 fueron inseminadas, 126 resultaron preñadas (tasa de concepción del 58%). Finalmente, en el GRUPO 2B, de 229 implantadas 3 perdieron el implante ( $p>0,05$ ), 226 fueron inseminadas, 126 resultaron preñadas (tasa de concepción del 56%). Se encontró una diferencia estadística significativa en cuanto a la tasa de pérdida de los implantes, SINCROGEST® (11/12)  $p<0,05$ . En cuanto a la tasa de concepción no se encontró diferencia estadística significativa utilizando implantes nuevos y usados. En un análisis de costo global, no se encontró diferencia en los grupos estudiados.

**Palabras clave:** Inseminación artificial; Prostaglandina; Gonadotropina coriónica

### Introducción

La ganadería cruceña esta cimentada sobre pasturas naturales y especies tropicales cultivadas, bajo estas condiciones se observa una predominancia racial de ganado Nelore, por su mayor adaptabilidad a condiciones tropicales de alta temperatura y humedad (Jiménez 2012).

La inseminación artificial es una de las técnicas de reproducción que mayor trascendencia ha tenido en la producción animal durante los últimos años.

Posee múltiples ventajas, entre ellas, la utilización de toros genéticamente superiores a los disponibles en la finca, la posibilidad de mejorar rápidamente el pie de cría del hato, la introducción de razas

poco comunes en la región y el control de las enfermedades del tracto reproductivo. (Carneiro 2003)

Para lograr la máxima rentabilidad económica en la producción ganadera, es preciso alcanzar la eficiencia reproductiva. Esto se logra con un manejo reproductivo planificado utilizando un sistema de control o sincronización del ciclo estral que mejore los índices reproductivos.

Los primeros tratamientos de sincronización pretendían inducir el estro y detectarlo, para posteriormente realizar la inseminación artificial. Ahora los protocolos más modernos tienen el objetivo de sincronizar la ovulación, independientemente de las manifestaciones de celo. De esta manera, es posible inseminar un gran número de animales en un día predeterminado, sin los trastornos causados por la necesidad de detección de celo (Pedraza 2010).

La implementación de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), es decir sin la necesidad de detección de celos, mediante el uso de diferentes dispositivos intravaginales para bovinos, en combinación con otras hormonas reproductivas, ha permitido incrementar la cantidad de animales incluidos en programas de inseminación artificial, dentro de los establecimientos ganaderos. Esto es debido fundamentalmente a la eliminación total o parcial de la detección de celos y a la simplificación en la programación y realización de las tareas de inseminación artificial (Yanzaguano, 2013).

Los programas de IATF vienen buscando como mejorar los índices obtenidos. Para ello se vienen haciendo pequeñas modificaciones a los protocolos, según la categoría de los animales. Actualmente se está centrando el interés en minimizar las

pérdidas embrionarias tempranas y una de las estrategias es buscar mejorar la calidad del cuerpo lúteo, para ello se puede utilizar la Gonadotropina Coriónica Equina (Jiménez 2012).

Por esta razón el presente trabajo de investigación busca determinar la eficacia del implante de progesterona PRIMER® versus SINCROGEST®, en vacas de raza Nelore, para tener una opción más en el mercado de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF).

El uso de estos dispositivos: PRIMER® y SINCROGEST®, proporcionan al ganadero la oportunidad de aumentar la eficiencia reproductiva de su hato, acompañado de importantes beneficios económicos percibidos de la explotación ganadera.

De la misma manera, permiten al ganadero regular el momento del celo y de la cubrición, pudiendo reducir el anestro posparto.

## Materiales y métodos

### MATERIALES

- 930 vientres Nelore
- 328 dispositivos intravaginales PRIMER®
- 229 dispositivos intravaginales SINCROGEST®
- 930 dosis de Benzoato de estradiol
- 930 dosis de Prostaglandina PGF<sub>2α</sub>.
- 930 dosis de Gonadotropina Coriónica Equina
- 930 dosis de seme (FARAOH, ESENCIAL, BERLOQUE, TAYSON)
- Kit completo de inseminación
- Caja para guardar el equipo
- Guantes de palpación
- Instalaciones (cepo, brete, corral)

**Descripción del área de estudio.** El presente trabajo de investigación se realizó en la Agropecuaria Chajema, la cual se encuentra ubicada en el departamento de Santa Cruz, provincia Chiquitos, municipio de Pailón, cantón de Tres Cruces. La propiedad está ubicada a 17°37' de latitud Sur y 62°18' de longitud Oeste, a 290 msnm. El área está influenciada por tres vías camineras: la carretera interdepartamental Santa Cruz - Beni hacia el norte, la transcontinental que une Santa Cruz - Puerto Suarez y la vía férrea Santa Cruz - Puerto Suárez, hacia el este.

### **Caracterización técnica productiva del centro**

**Pasturas cultivadas:** Esta propiedad cuenta con una extensión total de 6100 hectáreas, de las cuales 2550 están destinadas a la agricultura y 3550 a la ganadería. Todas las pasturas del área ganadera son cultivadas, las cuales a la vez están divididas por potreros de 50 a 70 ha (Cuadro 1). Se realiza el pastoreo rotacional todo el año.

**Cuadro 1.** Superficie de pasturas cultivadas en la empresa Agropecuaria Chajema

Especie de pastura	Superficie (ha)
<i>Panicum maximum</i> cv. Tanzania	1420
<i>Brachiaria brizanta</i> cv. MG -5	1065
<i>Panicum maximum</i> cv. Aruana	1065
<b>Total</b>	<b>3550</b>

Fuente: Empresa Agropecuaria Chajema

**Infraestructura:** El campamento está formado con dos casas donde se encuentran los cuartos de los trabajadores, con los respectivos dormitorios, una cocina con

su comedor y otras tres casas que son viviendas de los dueños (10 empresarios argentinos) que llegan al lugar de manera esporádica. La infraestructura para el ganado, está conformada por dos corrales convencionales, ubicados en partes estratégicas para su debido funcionamiento. Están formados por embudo, brete, cepo, balanza, embarcadero y cada uno con sus respectivos corrales de espera.

También cuenta con 8 tanques tipo australiano, de los cuales 4 tienen una capacidad de 300.000 litros y otros 4 de 150.000 litros, los cuales abastecen a los diferentes bebederos ubicados en los corralones de los potreros. Estos bebederos son rectangulares de cemento. También se cuenta con cuatro tractores, rome plow, chatas, sembradoras, cortadoras de pasto, niveladoras de terreno y tres camionetas para el transporte del personal a las diferentes áreas de trabajo.

**Población bovina:** El Cuadro 2 presenta esta información.

**Cuadro 2.** Inventario del hato Nelore de la empresa Agropecuaria Chajema

Categoría	Peso promedio (kg)	Cantidad
Torillos- 220 kg	225	872
Torillos 300 a 380 kg	325	1369
Torillos + 380 kg	390	484
Vacas de cría	365	1200
Terneros destetados	195-205	1126
Vaquillas 1 año y 2 años	160	715
Otras razas	340	378
<b>Total hato</b>		<b>6144</b>

Fuente: Empresa Agropecuaria Chajema

**Unidad de muestreo.** El trabajo de investigación se llevó a cabo con 930 vacas paridas, multíparas, de raza Nelore, en las cuales 328 se implantó con PRIMER ® y 229 con SINCROGEST ® de primer uso, mientras que 144 con PRIMER ® y 229 SINCROGEST ® de segundo uso.

Se aplicaron dos protocolos: el primero, que consistió en el uso de SINCROGEST ®, de primer uso, y cuyo procedimiento se explica en el Cuadro 3; mientras que para el segundo se utilizó PRIMER ® y 229 SINCROGEST ®, de segundo uso, tal como se detalla en el Cuadro 4.

El diagnóstico de gestación se realizó mediante ultrasonografía a los 32 días post inseminación.

### MÉTODOS

**Método de campo.** El presente trabajo de investigación se llevó a cabo una previa planificación del diseño de la tesis, seleccionando a las vacas nelore las cuales tuvieron una condición corporal de 1,8 – 2,5 (en la escala 1-5).

**Análisis estadístico.** Los resultados fueron sometidos al análisis estadístico mediante la prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson.

**Cuadro 3.** Protocolo de IATF en vacas con PRIMER®

DIA 0	DIA 8	DIA 10
2 mg de benzoato de estradiol	Retiro del implante de progesterona PRIMER ®	IATF lapso de 48-54 horas
	Administración de D-cloprostenol 0,150 mg	Administración de GnRh 0,02 mg
Aplicación del implante de progesterona (1g) - PRIMER ® de 1er. uso	Gonadotropina coriónica equina 400UI (NOVORMON)	
Aplicación del implante de progesterona - PRIMER ® de 2do uso	Cipionato de estradiol 0,5 mg	

**Cuadro 4.** Protocolo de IATF en vacas con SINCROGEST®

DIA 0	DIA 8	DIA 10
Administración de 2 mg de benzoato de estradiol	Retiro del implante de progesterona SINCROGEST ®	IATF lapso de 48- 54 horas
Aplicación del implante de progesterona (1g) - SINCROGEST ® de 1er uso	Administración de D-cloprostenol 0,150 mg	Administración de GnRh 0,02 mg
Aplicación del implante de progesterona - SINCROGEST ® de 2do. uso	Gonadotropina coriónica equina 400 UI (NORVON-MON)	
	Cipionato de estradiol 0,5 mg	

## Resultados y discusión

Se utilizaron 930 vacas de raza Nelore, las cuales fueron seleccionadas en base a su condición corporal, cuya escala fue de 2 a 3, aplicando la escala del 1 al 5.

El hato se dividió en cuatro grupos, en los grupo 1A y 2A se utilizó implante de primer uso, para los grupos 1B y 2B se utilizó implantes de segundo uso.

### Grupo 1A (328 vacas):

Se implantó 328 vacas con el implante intravaginal PRIMER®, de liberación lenta de progesterona de primer uso, al momento del retiro del implante, una vaca perdió el dispositivo (Cuadro 4), por lo cual solo se llegó a inseminar 327 vacas; posteriormente, al día 32 post inseminación, se realizó el diagnóstico de preñez mediante ultrasonografía, el resultado fue que de las 327 vacas inseminadas 163 resultaron preñadas y 164 resultaron vacías, lo cual representa una tasa

de concepción del 50% utilizando el implante de progesterona PRIMER® (Cuadro 5).

### Grupo 2A (229 vacas):

Se implantó 229 vacas con el implante intravaginal SINCROGEST®, al momento del retiro del implante, 11 vacas llegaron a perder el dispositivo (Cuadro 4), por consiguiente solo 218 vacas continuaron en el programa de IATF; pasados 32 días de la inseminación, se realizó el diagnóstico de preñez, resultando 126 vacas preñadas y 92 vacías, por tanto una tasa de concepción del 58% utilizando el implante de progesterona SINCROGEST® (Cuadro 5).

Se encontró diferencia estadística significativa en cuanto a la tasa de pérdida de los implantes de 1er. uso, dado que el porcentaje de pérdida es mayor con SINCROGEST® (11/12) que con PRIMER® (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Tasa de pérdida de los implantes de primer uso en los grupos 1A y 2A

Variable	Vacas implantadas	Tasa de pérdida	
		n	%
Primer®	328	1	0.30
Sincrogest®	229	11	4.80
<b>Total</b>	<b>557</b>	<b>12</b>	<b>2.15</b>

( $p < 0.05$ )

**Cuadro 5.** Tasa de concepción Grupo 1A y Grupo 2A

Variable	Vacas implantadas	Tasa de pérdida	
		n	%
Primer®	327	163	49.84
Sincrogest®	218	126	57.79
<b>Total</b>	<b>545</b>	<b>289</b>	<b>53.03</b>

( $p > 0.05$ )

No se encontró diferencia estadística significativa en cuanto a la tasa de concepción con los grupos 1A (PRIMER®) y grupo 2A (SINCROGEST®).

costo de 18,88 \$us, comparándolo con el Grupo 2A que tuvo un costo de 21,09 \$us, teniendo una diferencia de 2,21 \$us a favor del grupo 1A (Cuadro 6).

Haciendo un análisis de costo por vaca inseminada, el Grupo 1A alcanzó un

**Cuadro 6.** Costos del tratamiento por animal grupos 1A y 2A

Ítem	PRIMER®		SINCROGEST®	
	USD	Bs	USD	Bs
Implante	6.7	47	8.91	62.10
Bioestro (BE)	0.17	1	0.17	1
Cipionato de estradiol	0.28	2	0.28	2
Sergon (ECG)	2.64	18	2.64	18
Bioprost (PG2&)	1.29	9	1.29	9
GnRH	0.8	6	0.8	6
Inseminación	7	50	7	50
<b>Total</b>	<b>18.88</b>	<b>133</b>	<b>21.09</b>	<b>148.1</b>

**Grupo 1B (144 vacas):**

Se implantó 144 vacas Nelore con el implante intravaginal PRIMER® de liberación lenta de segundo uso. En este grupo ninguna vaca llegó a perder el implante (Cuadro 7) por lo tanto todas las vacas se inseminaron sin ningún problema. A los 32 días post inseminación se realizó la correspondiente ultrasonografía; de 144 vacas inseminadas, 81 resultaron preñadas y 63 vacías (tasa de concepción del 56%) (Cuadro 8).

del implante, tres vacas perdieron el mismo (Cuadro 7), por lo cual solo se inseminó 226 vacas. A los 32 días después de la inseminación se realizó el diagnóstico de preñez, dando como resultado 126 preñadas y 100 vacías, lo que representa una tasa de concepción del 56% (Cuadro 8).

**Grupo 2B (229 vacas):**

Se implantó 229 vacas Nelore con el implante intravaginal SINCROGEST® de segundo uso. Al momento del retiro

No se encontró diferencias estadísticas significativas en cuanto a la pérdida de los implantes de 2do. uso PRIMER® vs. SINCROGEST®.

Tampoco se llegó a encontrar diferencias en la tasa de concepción utilizando ambos implantes, de 2do. uso.

**Cuadro 7.** Tasa de pérdida de implante de segundo uso Grupo 1B y Grupo 2B

Variable	Vacaciones implantadas	Tasa de pérdida	
		n	%
Primer ®	144	0	0.0
Sincrogest ®	229	3	1.31
<b>Total</b>	<b>373</b>	<b>3</b>	<b>0.80</b>

(p &gt; 0.05)

**Cuadro 8.** Tasa de concepción Grupo 1B y Grupo 2B

Variable	Vacaciones implantadas	Tasa de pérdida	
		n	%
Primer ®	144	81	56.250
Sincrogest ®	226	126	55.75
<b>Total</b>	<b>370</b>	<b>207</b>	<b>55.95</b>

(p &gt; 0.05)

En cuanto a un análisis de costos entre el grupo 1B y 2B, se encontró una diferencia de 1.23 \$us (Cuadro 9).

En el presente estudio se comparó la tasa de concepción junto con la tasa de pérdida de los implantes de progesterona PRIMER ® y SINCROGEST ®, en un programa de IATF, llegando a tener como resultados que no se encontró diferencia estadística significativa en la tasa de concepción, en la utilización y reutilización de los implantes.

En cuanto a la tasa de pérdida de los implantes, se llegó a encontrar una diferencia estadística significativa en los grupos 1A y 2A, la diferencia observada puede deberse a que en las vacas del grupo 2A, su condición corporal fue regular, a diferencia de las del grupo 1A, cuya condición corporal era buena.

Otro factor que pudo afectar en la diferencia, podría deberse a errores en el colocado de los implantes, aunque esto es menos probable.

Carneiro (2003), en un trabajo de investigación donde comparó la tasa de concepción utilizando el implante intravaginal-CIDR-B vs. el implante subcutáneo SYNCROMATE-B, en un programa de IATF, utilizando vaquillas mestizas lecheras, no encontró diferencia estadística significativa en el uso de ambos implantes.

Por su parte, Borenstein (2004), trabajando con el objetivo de comparar la tasa de concepción, en la utilización y reutilización de dos implantes de progesterona (CIDR vs. DIB), en vacas Nelore, no encontró diferencias entre las tasas de concepción, en un programa de IATF con implantes nuevos y usados.

**Cuadro 9.** Costo del tratamiento por animal para los grupos 1B y 2B

Ítem	PRIMER ®		SINCROGEST ®	
	USD	Bs	USD	Bs
Implante	3.3	23.5	4.45	31.05
Bioestro (BE)	0.17	1.18	0.17	1.18
Cipionato de estradiol	0.28	1.95	0.28	1.95
Sergon (ECG)	2.64	18.35	2.64	18.35
Bioprost (PG2&)	1.29	8.97	1.29	8.97
GnRH	0.8	5.56	0.8	5.56
Inseminación	7	50	7	50
<b>Total</b>	<b>15.4</b>	<b>109.51</b>	<b>16.63</b>	<b>117.06</b>

## Conclusiones

- No se encontró diferencia estadística en cuanto a la tasa de concepción en los programas de IATF, con PRIMER ® y SINCROGEST ®, sean de 1er. o 2do. uso.
- El análisis sobre la tasa de pérdida de implantes de primer uso, determinó diferencia estadística significativa a favor del PRIMER ®, respecto al SINCROGEST ®.
- Respecto al factor económico, se encontró diferencia en costos por animal tratado, llegando a tener un costo menor en el caso de animales tratados con PRIMER ®.
- Estos resultados dan al productor una nueva opción en cuanto a la utilización de implantes de liberación lenta de progesterona, en este caso PRIMER ® de 1g., el cual está tratando de entrar al mercado pecuario.

## Referencias citadas

- Borenstein S. 2004. Comparación de la eficiencia de dos implantes intravaginales con progesterona para la sincronización de celo en bovinos Nelore. Tesis de grado, FMVZ, UAGRM. Santa Cruz, Bolivia. pp. 9.
- Carneiro A. 2003. Comparación del CIDR-B vs. SYNCROMATE-B en inseminación artificial a tiempo fijo de vaquillas mestizas lecheras. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Veterinarias. UAGRM. Santa Cruz, Bolivia. 75 p.
- Jiménez E. 2012. Comparación de dos fuentes (ECG) en la IATF de vaquillas Nelore provincia Ñuflo de Chávez. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Veterinarias. UAGRM. Santa Cruz, Bolivia. 68 p.
- Pedraza P. 2010. Uso de dos implantes de progesterona en un protocolo de inseminación a tiempo fijo en vacas mestizas. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Veterinarias. UAGRM, Santa Cruz, Bolivia. 82 p.
- Yanzaguano A. 2013. Evaluación de la tasa de preñez utilizando inseminación artificial a tiempo fijo a 0-10-20 horas post aplicar el protocolo de sincronización OVSYNCH. Tesis de grado. Universidad Politécnica Salesiana, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Cuenca. 120 p.



## Comparación de dos protocolos de IATF de 10 vs. 11 días en hembras Nelore, y sus cruizas en tres categorías, en la estancia “El Azafrán”

Ortiz Javier; Ortiz Masay; Ballivián Gustavo

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno

E-mail de contacto: [javier.ortiz.t@gmail.com](mailto:javier.ortiz.t@gmail.com)

**Resumen.** El objetivo de estudio fue comparar la eficiencia reproductiva, a través de la tasa de concepción de dos protocolos de IATF, de 10 vs. 11 días, en hembras Nelore y sus cruizas en tres categorías: vaquillas, vacas primíparas y vacas múltíparas, en la estancia “El Azafrán”. El presente trabajo de investigación se inició seleccionando 802 hembras, 243 para IATF de 10 días (106 Nelore y 137 Cruza) y 559 para IATF de 11 días (235 hembras Nelore y 324 hembras Cruza). El diagnóstico de preñez precoz se realizó a los 32 días, post IATF, mediante ultrasonografía. El análisis estadístico se efectuó mediante pruebas no paramétricas, siendo el método utilizado, el test de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) y comparación de proporciones. A la existencia de significancia estadística, en la tasa de concepción por efecto de los factores (tiempo de retiro del DIB, condición racial y categoría de vientres), se utilizó la prueba de *Diferencia Mínima Significativa* (DMS) para la comparación múltiple de proporciones, aceptando un 0.05 de error. Comparando los dos protocolos de IATF de 10 vs. 11 días, para el protocolo de IATF de 10 días con 66% vs. IATF de 11 días con 54 %, observándose diferencia estadística significativa entre los dos protocolos ( $p < 0,05$ ). Tomando en cuenta el padrón racial, Nelore 57% vs. Cruza 59% no presentar una diferencia estadística significativa por raza ( $p > 0,05$ ). La mejor tasa de concepción, dentro de las tres categorías, fue para las vacas múltíparas con un 70% en el protocolo de IATF de 10 días.

**Palabras clave:** Eficiencia reproductiva; Inseminación artificial; Tasa de concepción

### Introducción

La inseminación artificial es la herramienta más antigua y utilizada para lograr el mejoramiento genético en los bovinos. Sin embargo, la ineficiencia en la detección y control del celo, es la principal limitante para el uso masivo de esta biotecnología.

En los últimos años, gracias al conocimiento de la fisiología del ciclo estral, así como la incorporación de la ultrasonografía para comprender la dinámica folicular de los bovinos, se desarrollaron tratamientos de sincronización que permiten

inseminar artificialmente a las hembras bovinas, sin la detección de los celos y se conocen como protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) (Portal Boliviano de Ganadería, 2015)].

En general, los porcentajes de preñez alcanzados con la IATF se aproximan al 50% en rodeos para carne (de la Mata *et al.* 2015).

Por estas razones, se hace necesario seguir haciendo investigación con el uso de las biotecnologías como la IATF. Este trabajo de investigación tiene la finalidad de aportar al técnico veterinario, dedica-

do a la reproducción bovina, ganadero e interesados en el tema, al proveer una información actualizada y resumida, respecto a la utilización de protocolos de IATF de 10 vs. 11 días. Esta investigación es de importancia para el ganadero y veterinario porque tiene que ver con el hato.

Otra fundamentación para desarrollar la presente investigación, es obtener buenos índices reproductivos para que las vacas tengan un ternero por año, logrando disminuir la cantidad de días abiertos, lo cual se puede alcanzar con un diagnóstico temprano de preñez precoz, para así identificar las hembras no preñadas, volverlas a inseminar o someterlas al tratamiento veterinario correspondiente y reducir las pérdidas de tiempo.

## Materiales y métodos

El trabajo de investigación se realizó en la estancia “El Azafrán”, ubicada entre la carretera Montero - Okinawa, comunidad “El Tajibo”, a 10 km hacia el sur, perteneciente a la provincia Warnes.

Esta estancia cuenta con una superficie total de 1890 hectáreas, en la cual solo 1803 ha se utilizan para el hato. El área total de pastoreo corresponde a una superficie de 1410 ha, divididas en potreros.

Las pasturas del predio son *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Panicum maximum* (Tanzania) y *Pennisetum purpureum* (Camerún rojo).

### Material semoviente

Para el presente trabajo se utilizaron 802 animales Nelore y mestizos (Nelore \* Angus, Nelore \* Senepol), en el periodo 2016, donde se tomaron en cuenta a las siguientes categorías de animales.

#### VAQUILLAS: 153

⇒ 66 IATF de 10 días  
(31 Nelore y 35 Cruza)

⇒ 87 IATF de 11 días  
(32 Nelore y 55 Cruza)

#### VACAS PRIMÍPARAS 181

⇒ 32 IATF de 10 días  
(17 Nelore y 15 Cruza)

⇒ 149 IATF de 11 días  
(67 Nelore y 82 Cruza)

#### VACAS MULTÍPARAS 468

⇒ 145 IATF de 10 días  
(58 Nelore y 87 Cruza)

⇒ 323 IATF 11 días  
(136 Nelore y 187 Cruza)

Las figuras 1 y 2 esquematizan los protocolos de IATF empleados en la presente investigación.

0	8	10
---	---	----

P4 + 2 mL PGF2α (500 µg) + 2 mL GnRH (100 µg) + 2 mL BE (2 mg)  
+ 1,5 mL eCG (300 UI) IATF + 1 mL CPE (0,5 mg)

**Figura 1.** Protocolo de IATF de 10 días en vaquillas, vacas primíparas y vacas multíparas en ganado de carne Nelore

0	8	10
---	---	----

P4 + 2 mL PGF2 $\alpha$  (500  $\mu$ g) + 2 mL GnRH (100  $\mu$ g) + 2 mL BE (2 mg)  
+ 2 mL eCG (400 UI) IATF + 1 mL CPE (0,5 mg)

**Figura 2.** Protocolo de IATF de 10 días en vaquillas, vacas primíparas y vacas múltiparas en ganado de carne Cruza (Nelore \* Angus, Nelore \* Senepol)

### *Análisis estadístico*

El análisis estadístico se efectuó mediante pruebas no paramétricas, siendo el test de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) y comparación de proporciones los métodos utilizados; a la existencia de significancia estadística en las tasas de concepción, por efecto de los factores (tiempo de retiro del DIB, condición racial y categoría de vientres), se utilizó la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS) para la comparación múltiple de proporciones, aceptando un 0,05 de error.

### **Resultados y discusión**

Habiendo cumplido con el protocolo establecido, se realizó el diagnóstico de gestación mediante ecografía a los 32 días post IATF.

Analizando los 802 registros de hembras Nelore y sus cruza, se determinó un promedio general de la tasa de concepción del 58% (463/802) de los dos protocolos de IATF de 10 y 11 días de hembras preñadas mediante la IATF (Cuadro 1).

El promedio general de 58% de las vacas preñadas por protocolos de IATF de 10 y 11 días, en relación a las que fueron inseminadas, es un valor aceptable para este trabajo.

### *Eficiencia de la tasa de concepción de dos protocolos de IATF de 10 vs. 11 días*

Dentro de los dos protocolos de IATF, realizados de 10 vs. 11 días, las mejores tasas de concepción se obtuvo con el protocolo de IATF de 10 días, con 66% vs. el protocolo de 11 días con un 54% de hembras preñadas, observándose diferencias estadísticas significativas entre los dos protocolos ( $p < 0,05$ ) (Cuadro 1).

Se debe aclarar que ambos lotes de vientres estaban en la misma condición corporal de 3 (en la escala de 1-5).

Si bien en IATF se considera que un porcentaje de preñez arriba del 40% es aceptable, pero aún no ideal, ya que lo ideal a alcanzar debería ser arriba del 50% (Hafez 1996). Según Péndola (2000) alcanzar valores mayores al 50% de preñez, sería ideal.

**Cuadro 1.** Resultados de la eficiencia de la tasa de concepción de dos protocolos de IATF de 10 vs. 11 días

Protocolos de IATF	Nº de IATF	Vacías	Preñadas	%
10 días	243	82	161	66
11 días	559	257	302	54
<b>Total</b>	<b>802</b>	<b>339</b>	<b>463</b>	<b>58</b>

( $p < 0,05$ )

Los índices están dentro de las medias alcanzadas por la presente investigación, en los protocolos de IATF de 10 días especialmente, donde mejor se obtuvieron estos parámetros por encima del 50% vs. 11 días. Raso (2012) menciona que los promedios de IATF varían entre el 30% y 60%.

**Comparación de la tasa de concepción del padrón racial Nelore vs. Cruza**

Según el padrón racial, en el Nelore 57% vs. Cruza 59% de hembras preñadas los resultados muestran que no hubo una diferencia estadística significativa por raza ( $p>0,05$ ) (Cuadro 2).

En un trabajo realizado por Borenstein (2004) en Yotaú (Guarayos), con vacas Nelore, se obtuvo un promedio de 57,8% utilizando CIDR-B y un 55,5% con DIB, con una CC de 3 en promedio, donde se menciona que la raza puede influir, pero considero que la condición corporal inicial es muy importante.

Prudencio (2012), no encontró diferencia estadística significativa en las tasas de concepción a los 30 días, tomando en cuenta el padrón racial, al comparar la fertilidad en vacas Nelore amamantando

terneros Nelore \* Angus (43,7%) vs. Nelore (39,2%).

Se puede evidenciar una clara ventaja del protocolo de IATF de 10 días vs. 11 días, sin embargo, en ambos protocolos, no hubo una diferencia significativa tomando en cuenta el padrón racial.

**Tasas de concepción de tres categorías: vaquillas, vacas primíparas y vacas multíparas**

Independientemente de la raza, se obtuvo la mejor tasa de concepción en las vacas multíparas, en el protocolo de IATF de 10 días con un 70% vs. 59% en el protocolo de IATF de 11 días.

El segundo lugar fue para las vacas primíparas en el protocolo de IATF de 10 días con un 69% vs. 52% en el protocolo de IATF de 11 días.

El menor porcentaje correspondió a las vaquillas en el protocolo de IATF de 10 días con 58% vs. 40% en el protocolo de IATF de 11 días.

Los cuadros 3, 4 y 5, presentan los resultados para las tres categorías, vale decir vaquillas, primíparas y multíparas, respectivamente.

**Cuadro 2.** Resultados de la comparación de la tasa de concepción, del padrón racial Nelore vs. Cruzas

Padrón racial	Tratamientos (protocolos de IATF)								General %
	10 días				11 días				
	Preñadas	Vacías	Total	%	Preñadas	Vacías	Total	%	
Nelore	70	36	106	66	123	112	235	52	57
Cruza	91	46	137	66	179	145	324	55	59
<b>Total</b>	<b>161</b>	<b>82</b>	<b>243</b>	<b>66</b>	<b>302</b>	<b>257</b>	<b>559</b>	<b>54</b>	<b>802</b>

( $p> 0,05$ )

**Cuadro 3.** Resultados de las tasas de concepción de **vaquillas**

Padrón racial	Protocolos de IATF								General %
	10 días				11 días				
	Preñadas	Vacías	Total	%	Preñadas	Vacías	Total	%	
Nelore	18	13	31	59	13	19	32	41	49
Cruza	20	15	35	57	22	33	55	40	47
<b>Total</b>	<b>38</b>	<b>28</b>	<b>66</b>	<b>58</b>	<b>35</b>	<b>52</b>	<b>87</b>	<b>40</b>	<b>48</b>

**Cuadro 4.** Resultados de las tasas de concepción de **vacas primíparas**

Padrón racial	Protocolos de IATF								General %
	10 días				11 días				
	Preñadas	Vacías	Total	%	Preñadas	Vacías	Total	%	
Nelore	13	4	17	77	34	33	67	51	56
Cruza	9	6	15	60	44	38	82	54	55
<b>Total</b>	<b>22</b>	<b>10</b>	<b>32</b>	<b>69</b>	<b>78</b>	<b>71</b>	<b>149</b>	<b>52</b>	<b>55</b>

**Cuadro 5.** Resultados de las tasas de concepción de **vacas múltiparas**

Padrón racial	Protocolos de IATF								General %
	10 días				11 días				
	Preñadas	Vacías	Total	%	Preñadas	Vacías	Total	%	
Nelore	39	19	58	67	76	60	136	56	60
Cruza	62	25	87	72	113	74	187	60	64
<b>Total</b>	<b>101</b>	<b>44</b>	<b>145</b>	<b>70</b>	<b>189</b>	<b>134</b>	<b>323</b>	<b>58</b>	<b>62</b>

Baruselli *et al.* (2001) reportaron tasas de concepción, variando entre 45% y 67% en la IATF, con el empleo de progesterona o progestágenos, tanto en vacas y vaquillas cebuinas o cruza, como en taurinas y que están dentro de los parámetros encontrados en el presente trabajo.

Sá Filho (2013) obtuvo tasas de concepción de IATF en vacas Nelore, tratadas con eCG, de 43,9% vs. 36,9% en vacas no tratadas con eCG. Estos índices están por debajo de los resultados de la presente investigación, donde la tasa de concep-

ción más alta fue de 70%, en el protocolo de IATF de 10 días.

Pegorer *et al.* (2011) demostraron en un estudio utilizando vaquillas Nelore, que con el uso de 300 UI de eCG, en el momento del retiro del DIB®, se aumentó las tasas de concepción (41,5% vs. 39,0%), valores que se encuentran dentro de los índices del protocolo de IATF para las vaquillas Nelore en el programa de IATF de 11 días, en el cual se utilizó dicha dosificación de eCG para el indicado trabajo.

## Conclusiones

- La mejor tasa de concepción en el protocolo de IATF se dio con 10 días con 66% vs. 54% con el protocolo de 11 días, con diferencias significativas.
- La tasa de concepción del padrón racial no presentó diferencia significativa por raza, siendo en el Nelore 57% vs. Cruza 59% de hembras preñadas.
- Los mejores resultados se encontraron en la categoría de vientres de vacas multíparas, con el protocolo de IATF de 10 días, con 70% vs. 59% en el protocolo 11 días, para vacas primíparas, con protocolo de IATF de 10 días con 69% vs. 52% en el protocolo de IATF de 11 días. La menor tasa de concepción se tuvo en vaquillas, con el protocolo de IATF de 10 días con 57% vs. 40% con IATF de 11 días.
- Se demostró que se puede obtener buenos índices de tasas de concepción, con protocolos de IATF de 11 días en la raza Nelore y Cruza, en hatos con categoría de vientres de vacas multíparas y primíparas, ya que la tasa de concepción es mayor a 50%.

## Referencias citadas

- Borenstein S. 2004. Comparación de la eficiencia de dos implantes intravaginales con progesterona para la sincronización de celo en bovinos Nelore. Tesis de grado. FMVZ, UAGRM. Santa Cruz, Bolivia. pp. 9.
- De la Mata J., Menchaca A., Bó A. 2015. Tratamientos que prolongan el proestro usando estradiol y progesterona en vaquillonas para carne. Resúmenes del 11avo. Simposio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, Argentina. pp. 143.
- Hafez E. 1996. Reproducción e inseminación artificial en animales. Sexta Edición. Interamericana México DF, México. 523 p.
- Pegorer F., Ereno L., Satrapa A., Pinheiro G., Trinca A., Barros M. 2011. Neither plasma progesterone concentrations nor exogenous eCG affects rates of ovulation or pregnancy in fixed-time artificial insemination (FTAI) protocols for pubertal Nelore heifers. *Theriogenology*. Philadelphia PA. v. 75, Nro. 1. pp. 17-23.
- Péndola H. 2000. Resultados reproductivos obtenidos a campo con diferentes protocolos de sincronización de celo/ovulación en vaquillas de 15 meses de edad. Comunicaciones cortas. 4to Simposio de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, Argentina.
- Portal boliviano de ganadería. 2015. Inseminación a tiempo fijo. *En línea*. Disponible en: <http://www.pbg.com.bo/index.php/espacio-tecnico/articulos/articulos-generales-menu/1308-inseminacion-artificial-a-tiempo-fijo-en-bovinos> Consultado en febrero de 2016.
- Prudencio A. 2012. Análise complementar: fertilidade em vacas Nelore amamentando bezerras Nelore ou Angus \* Nelore e submetidas a un protocolo de inseminacao artificial em tempo fixo. Piracicaba, Brasil. pp 57-64. *En línea*. Disponible en: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Amanda\\_Prudencio\\_Lemes\\_versao\\_revisada.pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Amanda_Prudencio_Lemes_versao_revisada.pdf) Consultado en diciembre de 2016.
- Raso M. 2012. Inseminación artificial a tiempo. *En línea*. Disponible en: [http://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_ganaderia46\\_inseminacion\\_ovina](http://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_ganaderia46_inseminacion_ovina) Consultado en diciembre de 2016.
- Sá Filho M. 2013. Different hormonal stimulus during synchronized proestrus alter the ovarian follicle responses and subsequent luteal function in suckled anestrus zebu cows. *Animal Reproduction*. 10:470.

## Evaluación de tres protocolos de inseminación artificial intracervical en cerdas híbridas (F1) nulíparas

Mendieta Álvaro; Torrico Mauricio

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno

E-mail de contacto: [alvaromiguelmr@gmail.com](mailto:alvaromiguelmr@gmail.com)

**Resumen.** El presente trabajo de investigación se desarrolló en la granja porcina “PIRAÍ” de la compañía “SOFÍA”, ubicada a 70 km al sur de la ciudad de Santa Cruz, carretera a Camiri. Se planteó el objetivo de evaluar tres protocolos de inseminación artificial intracervical, en cerdas nulíparas híbridas F1. La evaluación se realizó en base a la tasa de fertilidad, tasa de parición, número de lechones nacidos totales y número de lechones identificados. Para la prueba se utilizaron 60 cerdas, 20 de ellas para el tratamiento I, con el protocolo 0-12-24; 20 cerdas para el tratamiento II, con el protocolo 0-24-36 y 20 para el tratamiento III, con el protocolo 12-24-36 horas, encontrado el punto cero o tolerancia al hombre. Los resultados para el tratamiento I, fueron una tasa de fertilidad de 95%, tasa de parición de 95%, número de lechones nacidos totales con un promedio por camada de 13.68 lechones y el número de lechones identificados de 12.95 por camada. Para el tratamiento II: fertilidad 95%, tasa de parición 90%, número de lechones nacidos totales 13.67 por camada y número de lechones identificados 12.83 por camada; para el tratamiento III: fertilidad 90%, tasa de parición 75% y número de lechones nacidos totales 13.87 y una media de 13.47 lechones identificados por camada. No se observó diferencias significativas ( $p>0.05$ ) para ninguna de las variables evaluadas, concluyendo que no existe diferencia estadística entre protocolos de inseminación artificial intra-cervical, en cerdas nulíparas híbridas F1, la diferencia fue solo numérica.

**Palabras clave:** Porcinocultura; Tasa de fertilidad; Tasa de parición; Prolificidad

### Introducción

La industria moderna de producción de cerdos, ha sufrido en los últimos años, una profunda transformación a nivel de los factores que determinan la eficiencia productiva en esta especie, como ser la nutrición, genética, sanidad, manejo, con el fin de mantener a nivel mundial como la carne más consumida, no solo por su precio competitivo, sino por la calidad y el valor nutritivo de este producto (Fernández 2013).

En la producción porcina, la reproducción es un factor determinante para el éxito productivo de la granja, ya que de ésta depende gran parte de la rentabilidad

de la producción, la cual, asociada con una alta genética, se va a ver reflejada en un producto de excelente calidad para el mercado.

La fertilidad y la prolificidad, ambos parámetros reproductivos, repercuten directamente en la rentabilidad de una explotación y por ello son considerados de primera importancia. Ambos parámetros están directamente relacionados de manera que (salvo algunas excepciones) las buenas tasas de fertilidad vienen acompañadas de alta prolificidad y viceversa.

En la actualidad, la inseminación artificial (IA) es una técnica cuyo uso se ha

intensificado, principalmente en países con alto desarrollo tecnológico (Holanda, Francia, Alemania, España, Noruega y Finlandia), en los cuales, más del 80% de las cerdas son inseminadas artificialmente, la industria porcina se ha empeñado en los últimos años, en buscar la manera de optimizar la IA, para hacer un uso más eficiente del semen, y de esta manera utilizar machos de alto valor genético, sin estar pendiente de las montas que realiza (Toalombo 2007).

La inseminación artificial debe hacerse lo más cerca posible a la ovulación. Teniendo en cuenta que la ovulación se produce en la cerda alrededor de 30 a 40 horas, después de la aparición de los primeros síntomas de celo, y por otro lado, que la vida media de los espermatozoides es de unas 36 horas y alcanzan el máximo de su actividad después de llevar 6 horas en el interior de los genitales de la cerda, se llega a la conclusión de que la inseminación debe hacerse unas horas antes de que se produzca la ovulación (Ciudad 1984).

Según Ciudad (1984), si se utiliza una sola dosis por inseminación, debe aplicarse a las 24 horas de la aparición del reflejo de inmovilidad. En el caso de realizar dos aplicaciones por celo, la primera de ellas se hará cuando hayan transcurrido entre 12 y 24 horas desde que se observaron los primeros síntomas de inmovilidad, y la segunda aplicación, entre las 24 y 36 horas (12 horas después de la primera aplicación).

Según Trolliet (2005), para el caso de las primerizas, es aconsejable una espera más corta, realizando la primera cubrición a las 12 horas de detectado el estro y la segunda 12 horas más tarde. Esta diferencia de manejo se basa en que la dura-

ción del estro es menor en las cachorras que en cerdas adultas.

Según Mendieta *et al.* (2014), los resultados obtenidos concluyeron que con protocolos de inseminación artificial intracervical, en cerdas primerizas híbridas F1, el que presenta mejores índices reproductivos, bajo las condiciones que se desarrolló la prueba, es el que se inseminó 12 horas de determinar el reflejo de tolerancia al hombre.

Debido a las fallas reproductivas que se observa en las cerdas nulíparas, se desarrolló el presente trabajo de investigación, donde se evaluó tres protocolos de inseminación, para disminuir las fallas reproductivas y alcanzar los mejores índices reproductivos, además de más sostenidos, en lo referente a tasa de fertilidad, tasa de parición y número total de lechones nacidos.

## Materiales y métodos

El presente trabajo de investigación se realizó desde el 29 de agosto de 2016 hasta el 4 de enero de 2017, en la granja porcina “Pirai”, de la compañía “SOFÍA”, ubicada a 70 km al sur de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, carretera a Camiri. La misma se halla localizada a 17°54'27.67" de latitud Sur y 63°15'6.26" de longitud Oeste, a una altura de 416 msnm, con temperatura media anual de 23.8°C y una precipitación pluvial anual media de 1504.5 mm (Mayser 1998).

Para el trabajo de investigación se utilizaron 60 cerdas nulíparas híbridas F1, provenientes del cruzamiento simple o industrial de macho *Large White* x hembra *Landrace*, con un peso promedio de 145 kg y una edad de 210 días, las cuales



fueron alojadas en jaulas donde cada jaula y/o cerda, se constituyó en la unidad experimental.

El trabajo se basó en los siguientes tres tratamientos (protocolos de inseminación artificial):

⇒ **Tratamiento I:** 20 cerdas nulíparas híbridas F1, que se inseminaron 0-12-24 de determinando el punto cero o reflejo de tolerancia al hombre.

⇒ **Tratamiento II.** 20 cerdas nulíparas híbridas F1, que se inseminaron 0-24-36 de determinando el punto cero o reflejo de tolerancia al hombre (manejo actual que se realiza en la granja).

⇒ **Tratamiento III:** 20 cerdas nulíparas híbridas F1, que se inseminaron 12-24-36 horas de haber determinado el punto cero o reflejo de tolerancia al hombre.

Las cerdas nulíparas fueron transportadas del centro genético, a la granja donde se realizó la unidad experimental. Primero pasaron por un área de adaptación, con una edad promedio de 170 días, donde se las recibió y se llevó un proceso de adaptación, recibiendo el manejo correspondiente, tanto en la alimentación como en su calendario de vacunación, el tiempo de permanencia fue de 40 días, aproximadamente. En este periodo las cerdas fueron tatuadas y areteadas para sus respectiva identificación. Al momento del ingreso de las cerdas, ya contaban con un celo y en el transcurso de la adaptación pasaron otro celo, una vez cumplido el tiempo de adaptación, se procedió a llevar al área de gestación donde al ingresar se les pesó e identificó en el registro. Posteriormente se las trasladó a jaulas. Las características consideradas para la inseminación fértil fueron las siguientes:

edad entre 200 y 220 días, con un promedio de 210 días y un peso entre 135 y 160 kg, con un promedio de 145 kg para los tratamientos.

Para la detección del celo se pasó padrillo por las jaulas en grupos correspondientes, donde se determinó la presencia de los signos externos típicos, es decir enrojecimiento e hinchazón de la vulva, orejas erectas y principalmente se efectuaba la presión del dorso y si se mantenía quieta o arqueaba el dorso, se procedía al cabalgamiento, es decir montar a la cerda y si no se movía era confirmación que estaba en celo y se las marcaban para su respectivo pesaje. Así, detectado el celo, se procedió a trasladar las cerdas marcadas a la balanza para su respectivo pesaje, con un promedio de 145 kilogramos, tomando en cuenta que debe contar con la edad establecida de 210 días, posteriormente al pesaje las cerdas fueron trasladado a las jaulas individuales, un ambiente confortable, temperatura entre 20°C a 25°C y una humedad entre 70% a 80%. Bajo ambiente controlado, se esperó la hora refractaria para que se vaya acostumbando a la jaula y no tenga estrés en la inseminación, trayendo problemas como reflujos, repetición de celo. La técnica de inseminación que se realizó fue la intra cervical para los tres tratamientos intercalando protocolos.

Para la identificación de las cerdas para el tratamiento, se realizó la enumeración de las jaulas para identificar los protocolos con el número 1 al protocolo 0-12-24, el número 2 al protocolo 0-24-36 y el último con el 3 al protocolo 12-24-36. Se pasó padrillo 2 veces al día, a las 6:00 am y 5:00 pm, para determinar celo.

Una vez transcurrido el tiempo de la hora refractaria, se procedió a la limpieza de las vulvas con agua yodada para desin-

fectar el área que se va a trabajar, con toallas desechables se procedió a la desinfección, se tuvo en cuenta de no pasar dos veces con la misma área utilizada.

Al momento de iniciar la inseminación, las cerdas estuvieron en presencia del macho para estimular la liberación de óvulos y tengan una mayor fertilidad, introduciendo el catéter por la vulva, con una elevación de unos 45°; se introdujo el catéter para que llegue al cérvix, el periodo de inseminación no pasó de los 5 minutos, ya que si la cerda se pone inquieta, dificultará la inseminación. La alimentación y manejo general, se realizaron según rutina propia de la granja.

A los 17 a 21 días se pasó padrillo para determinar retorno de celo y poder establecer la fertilidad. El objetivo era detectar a las cerdas que no presentaban celo. Para determinar la tasa de fertilidad, se tomó en cuenta solo las fallas de repetición de celo.

Llegando a los 42 días de gestación, fueron trasladadas a otro galpón, denominado “Gestación 2” para concluir con todo su periodo de gestación. Se las trasladó en esos días debido a que el embrión ya se encontraba alojado en el útero y no corría peligro de reabsorción embriona-

rio. La alimentación y el manejo en general se realizaron según rutina de la granja.

Para determinar la tasa de parición, se tomó en cuenta todas las cerdas inseminadas que finalizaron la gestación o llegaron a los 114 días.

Una vez finalizada la gestación se procedió a determinar el número de lechones nacidos totales por camada, se hizo el conteo una vez finalizado el parto, se observó la cantidad de lechones nacidos, tomando en cuenta los nacidos vivos, nacidos muertos y momios. Para los nacidos identificados solo se observaron los nacidos vivos.

Los resultados obtenidos fueron analizados a través de un análisis de varianza, con el conjunto de datos obtenidos en el estudio, con un modelo estadístico lineal.

## Resultados y discusión

En el análisis de los índices reproductivos observados, en la prueba de evaluación de los tres protocolos de inseminación artificial intracervical en cerdas nulíparas híbridas F1, se obtuvieron los resultados que se resumen en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Resumen de índices productivos obtenidos para los tres protocolos de inseminación intra-cervical en cerdas primerizas híbridas F1

Ho	Número de cerdas	Falla reproductiva	Fertilidad		Tasa de parición		NLNT		NLNI	
			A *	%	Número	%	Media	Total	Media	Total
T 1	20	1	19	95	19	95	13.68	260	12.95	246
T 2	20	2	19	95	18	90	13.67	246	12.83	231
T 3	20	5	18	90	15	75	13.87	208	13.47	202

\* A: No retorno de celo en 18 días

NLNT: Número de lechones nacidos totales; NLNI: Número de lechones nacidos identificados

### **Tasa de fertilidad**

Para la variable tasa de fertilidad, no se observó diferencia estadística ( $p>0.05$ ), las diferencias solo fueron numéricas.

La mayor tasa de fertilidad se observó en las cerdas del tratamiento I, con 19 cerdas, lo que significa el 95% de fertilidad, presentando un retorno de celo de 5%, al igual que las cerdas del tratamiento II que presentaron el 95% de fertilidad; mientras que las cerdas del tratamiento III, solo presentaron un 90% de fertilidad, es decir, en dos cerdas (que representan el 10%) sucedió retorno de celo a los 18 a 21 días, luego de ser inseminadas.

Los resultados observados para la tasa de fertilidad difieren con los reportados por Mendieta *et al.* (2014), quienes señalan que la mayor tasa de fertilidad se observó para el tratamiento 12-24-36, con 92.5% a diferencia del tratamiento 0-12-24, con el que se llegó solo a 82% de fertilidad en relación a la prueba.

### **Tasa de parición**

Para la variable tasa de parición no se observó diferencias estadísticas significativas ( $p>0.05$ ) entre protocolos de inseminación, en la cual solo se observó diferencia numérica. La mayor tasa de parición se logró en las cerdas del tratamiento I con un 95%, siendo superior con 5% para el tratamiento II que solo llegó al 90% de parición y un 20% de diferencia con el tratamiento III, que tuvo 75% de parición, tal como se observa en el Cuadro 1.

Los resultados observados para la tasa de parición difieren con reportes de Mendieta *et al.* (2014), quienes señalan que la mayor tasa de parición se observó en el tratamiento 12-24-36) con un 90%, con

una diferencia de 8.33% en relación al tratamiento 0-12-24, que sólo tuvo una tasa de parición de 82.5%.

### **Lechones nacidos totales**

Para la variable de lechones nacidos totales, no se observó diferencia significativa ( $p>0.05$ ), la diferencia solo es numérica.

El mayor número de lechones nacidos totales, se observó en las cerdas del tratamiento I, con un total de 260 lechones y una media de 13.68 lechones nacidos totales por camada, con una diferencia con el tratamiento II de 14 lechones menos y una similitud en su media (13.67 lechones nacidos totales por camada). En cuanto al tratamiento III, se evidencia una superioridad de 52 lechones de diferencia con respecto al primero, pero con una media mayor de 13.86 lechones nacidos totales por camada, como se observa en el Cuadro 1.

Estos resultados coinciden con los reportados por Mendieta *et al.* (2014), quienes señalan que el mayor número de lechones nacidos totales son para el tratamiento con el protocolo 12-24-36, con el que se alcanzó una media de 11.56 lechones totales y una superioridad de 6.40% en relación a las cerdas del tratamiento 0-12-24, que solo tuvo un promedio de 10.82 nacidos totales por camada.

### **Número de lechones identificados**

Para la variable número de lechones nacidos identificados, no se observó diferencia significativa ( $p>0.05$ ), la diferencia solo fue numérica.

El mayor número de lechones nacidos identificados, se presentó en las cerdas del tratamiento III con una media de 13.47 lechones nacidos identificados,

haciendo un total de 202, comparando con las cerdas del tratamiento I, una diferencia mayor de 44 lechones y una media de 12.95, en cuanto a las cerdas del tratamiento II con una diferencia de 15 lechones menos y una similitud en su media de 12.83 lechones nacidos identificados por camada, como se observa en el Cuadro 1.

Los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con lo reportado por Mendieta *et al.* (2014), quienes observaron el mayor número de lechones nacidos identificados, pero con un número inferior de 11.25 lechones por camada para el tratamiento 12-24-36, a diferencia del tratamiento 0-12-24, con el que solo se obtuvo 10.30 lechones en su investigación.

## Conclusiones

- La tasa de fertilidad para el tratamiento I fue de 95%, el tratamiento II fue 95% y para el tratamiento III fue de 90%.
- La tasa de parición para el tratamiento I fue de 95%, el tratamiento II fue 90% y para el tratamiento III fue de 75%.
- El número de lechones nacidos totales por camada fue de 13.68 para el tratamiento I, 13.67 para el tratamiento II y 13.87 para el tratamiento III. Mientras que para la variable de lechones nacidos identificados por camada fue de 12.95 para el tratamiento I; 12.83 para el tratamiento II y 13.47 para el tratamiento III.
- No se observó diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) entre los tres

protocolos de inseminación artificial intracervical, en cerdas nulíparas híbridas F1, la diferencia fue solo numérica en las variables de respuesta consideradas.

## Referencias citadas

- Ciudad C. 1984. Inseminación artificial de ganado porcino. *En línea*. Disponible en: <https://docplayer.es/5373556-Inseminacionartificialdeganadoporcino.html> Consultado en febrero de 2018.
- Fernández D. 2013. Evaluación productiva de dos tipos de hibridación en cerdos comerciales de machos castrados en fase de desarrollo y acabado. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Veterinaria. UAGRM, Santa Cruz, Bolivia.
- Mayser L. 1998. Santa Cruz y sus provincias. 3ra. ed. Santa Cruz, Bolivia. pp. 39-41.
- Mendieta A., Cardozo R., Montaña B. 2014. Evaluación de dos protocolos de inseminación artificial intracervical en cerdas primerizas híbridas F1. pp. 385-390. **En:** XX Reunión Nacional de la Asociación Boliviana de Producción Animal (ABOPA). Villa Montes, Tarija. 8 y 9 de agosto de 2016.
- Toalombo P. 2007. Evaluación de la inseminación intrauterina profunda y cervical en cerdas. Tesis de grado. ESPOCH. pp. 49.
- Trolliet C. 2005. Productividad numérica de las cerdas. Factores y componentes que la afectan. *En línea*. Disponible en: [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar) Consultado en febrero de 2018.

## Evaluación reproductiva de toros en predios ganaderos de la provincia Cercado en el Beni

Balcázar Pablo; Moreno Robert; Mariscal Arturo

Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad Autónoma del Beni “José Ballivián”

E-mail de contacto: pablobalcazar2008@hotmail.com

**Resumen.** La producción bovina en el trópico de Bolivia se caracteriza por sistemas extensivos que aplican incipientes sistemas de manejo reproductivo en la selección de sementales. En este contexto, se evaluaron mediante examen andrológico 1013 toros en predios ganaderos de la provincia Cercado (Beni) en el periodo 2009-2013). Calificaron 81.44% como toros aptos y 18.56% se descartaron. El descarte, principalmente, fue por baja motilidad espermática, estrechez pélvica, ausencia de motilidad, criptorquidia unilateral, hipoplasia testicular unilateral y ausencia de eyaculado, seguidas de otras causas menores. Las características reproductivas de toros en los predios ganaderos estudiados, se encuentran dentro de los parámetros zootécnicos de descarte (< 20%) por lo que se acepta la Ho ( $p \leq 0.05$ ). No existe intervención en la selección de toros como parte del manejo reproductivo en los predios estudiados.

**Palabras clave:** Manejo reproductivo; Fertilidad; Examen andrológico

### Introducción

La producción de bovinos, en sistemas de explotación extensiva en llanuras aluviales del trópico de Bolivia, se caracteriza principalmente por sistemas de crianza bajo condiciones extensivas, en pasturas naturales. Las explotaciones ocupan extensas llanuras aluviales, que cuentan con escasa tecnificación, bajos índices productivos y una menguada rentabilidad, además de estar alejadas de los principales centros de consumo (Vaca 2003, Daza 2008).

La selección de toros en estos sistemas extensivos, se realiza por sus características fenotípicas, sin considerar la capacidad reproductiva del semental. En estos predios, la eficiencia reproductiva de bovinos está determinada por el número de terneros destetados, con relación a las hembras “entoradas” y la interacción entre fertilidad del toro y hembra.

El examen andrológico determina el potencial reproductivo de toros, permitiendo establecer prácticas de manejo y proporción de toro/hembras (Silva *et al.* 2012). Las pruebas andrológicas permiten criterios de selección que podrán ser adoptados para mejorar la fertilidad de toros, destinados a la reproducción en predios. Además estas pruebas permitirán seleccionar reproductores idóneos para no sobrecargar la función de un toro eficiente, supliendo a otro no apto.

La fertilidad del toro, es más importante que la fertilidad de la vaca, esto debido a la responsabilidad de preñar varias hembras. Por tanto, los índices de reproducción dependerán de la calidad del toro, ya que si éste no cumple con los parámetros exigidos, se traducirá en una baja eficiencia reproductiva del hato bovino.

En sistemas extensivos, la capacidad reproductiva de un toro puede quedar

encubierta si el toro infértil es dominante y dificulta o no permite el servicio de otros toros, lo que repercutirá negativamente en los índices de fertilidad del hato. La evaluación de la fertilidad y potencial de toros no es una práctica común del manejo reproductivo, por lo que fue necesario evaluar las características reproductivas de toros de distintas categorías, en predios ganaderos de la provincia Cercado, tarea que se enfrentó con dificultades asociadas a deficiencias en la infraestructura (falta de cepo, por ejemplo) para el manejo de examen andrológico, además de la resistencia por parte de ganaderos para la ejecución de pruebas, debido a la desinformación sobre las ventajas de evaluar los toros.

## Materiales y métodos

**Localización y espacio temporal del estudio.** El estudio se realizó en predios ganaderos de la provincia Cercado en el Beni, durante el periodo 2009 a 2013, en los meses de agosto a noviembre, clasificando los predios ganaderos en cuatro categorías: *familiares*, *pequeñas*, *medianas* y *grandes*, denominándolas unidades productivas ganaderas.

Se debe considerar que la categorización general en predios en la provincia Cercado, está en relación al número de cabezas de ganado bovino y no a los sistemas de explotación (Aguilera 2004).

**Población y muestra.** La población estimada de toros fue de 4952 animales, que corresponde al 2,28% del total del hato bovino de la provincia Cercado (217.173 cabezas), en 482 predios ganaderos. La muestra la constituyeron 1013 toros en edad reproductiva. Las características raciales de los toros estudiados, al ser tan diversas, se ajustaron al denominativo de

"cebú común" y "mestizos", que representan cruza entre cebú y razas europeas (SENASAG-FEGABENI, 2010).

**Evaluación reproductiva del toro.** Para la evaluación de las características de los sementales, se empleó un examen andrológico, con el objetivo de medir la capacidad reproductiva de los toros en servicio. Para la evaluación se realizó con un examen clínico, examen físico externo, examen físico interno, espermograma, llegando a un dictamen final, evaluando todos los problemas reproductivos del macho.

**Dictamen.** Al concluir la valoración técnica científica, donde se consideraron características reproductivas del toro, en predios ganaderos, se dictaminó dos clasificaciones:

**Toro apto:** aquel animal que cumplió con las características reproductivas recomendadas.

**Toro no apto:** los toros descartados que no cumplieron con las exigencias.

## Resultados y discusión

### Evaluación reproductiva de toros

El Cuadro 1 muestra la evaluación de las características reproductivas de toros por categoría de predios, donde se observa un dictamen de **apto** en categoría grande, del 25.86%, mediano 25.07%, pequeño 20.53%, familiar 9.98%. El descarte en categoría grande correspondió al 3.85%, mediano 8%, pequeño 5.03%, familiar 1.68%.

Comparadas estas proporciones, evidencian una diferencia altamente significativa ( $p < 0.001$ ).

**Cuadro 1.** Evaluación de las características reproductivas de toros en sistemas de manejo extensivo en predios ganaderos de la provincia Cercado (Beni, 2009-2013)

Categoría	n	%	Dictamen					
			Aptos			No aptos		
			n	% P	% T	n	% P	%T
Grande	301	29.71	262	87.04	25.86 a	39	12.96	3.85 b
Mediano	335	33.07	254	75.82	25.07 a	81	24.18	8.00 c
Pequeño	259	25.57	208	80.31	20.53 b	51	19.69	5.03 c
Familiar	118	11.65	101	85.59	9.98 c	17	14.41	1.68 a
<b>Total</b>	<b>1013</b>	<b>100.00</b>	<b>825</b>	<b>---</b>	<b>81.44</b>	<b>188</b>	<b>---</b>	<b>18.56</b>

%P: Porcentaje parcial; %T: Porcentaje total

( $p < 0.001$ ) Proporciones con letras comunes no difieren significativamente

Los resultados del Cuadro 1 muestran que el 81.44% de los toros estudiados calificaron a los exámenes como aptos, mientras que 18.56% se descartaron.

Los datos hallados se encuentran dentro de parámetros zootécnicos de descarte ( $\leq 25\%$ ) en explotaciones donde no se sometió con anterioridad a toros a pruebas de evaluación andrológica. Resultados similares fueron hallados por Fernández (2015), quien registró un 81.6% de toros aptos provenientes de rodeos de bovinos para carne.

Boggio (2007) afirma que "... normalmente cuando se realiza una evaluación de la aptitud reproductiva potencial y funcional, se tiene 15 a 20% de toros no aptos para la reproducción ...".

De acuerdo con Tibisay y Ballarales (2005) "... aproximadamente el 25% de los toros de un rebaño al que no se le han realizado evaluaciones andrológicas, tienen cierto grado de sub fertilidad e incluso esterilidad ...".

Por otra parte, Capandeguy y Mattos (2014), hallaron un 90.90% de toros aptos y un descarte del 9.10%, en una in-

vestigación realizada en explotaciones de bovinos de carne en Uruguay, donde se sometió a una evaluación andrológica a toros provenientes de rodeos de carne.

A diferencia de los resultados hallados en la presente investigación, un descarte menor es atribuible a las características de manejo de las explotaciones ganaderas, que aplican esquemas de evaluación reproductiva de toros de forma rutinaria.

La fertilidad es un aspecto de gran impacto económico en cualquier sistema de explotación ganadera. La eficiencia reproductiva conlleva al incremento del número de terneros, mejorando los ingresos y permitiendo una mayor intensidad de selección del rebaño (Gómez y Pérez 2008). El no evaluar los toros, incide directamente en bajos índices de producción, incremento del intervalo entre partos y largos periodos de parición, dificultando el manejo de terneros en los ciclos de lluvias e inundación, que son propios en la provincia Cercado, ocasionando pérdidas económicas y bajas tasas de destete.

La evaluación reproductiva satisfactoria de toros, indica Gasque (2008), garantiza

que un reproductor, al ingresar a servicio, cumplirá con el objetivo de preñar vacas, incrementando la eficiencia productiva del hato bovino. Carrillo citado por Acuña et al. (2011) afirma que "... para obtener un ternero por vaca por año, es necesario que el período de servicio sea de corta duración ...".

### Causas de descarte de toros

El Cuadro 2 muestra las causas de descarte de toros, entre las cuales destaca la baja motilidad espermática, estrechez pélvica, ausencia de motilidad, criptorquidismo unilateral, hipoplasia test / unilateral y ausencia de eyaculado, entre

otras. Entre las causas de descarte de los toros por categoría de predios (Cuadro 2), prevalece en el descarte de toros, la baja motilidad espermática (27.13%), sin que exista una causa específica atribuible a esta anomalía.

Ruíz et al. (2010) recomiendan que los toros que tienen baja motilidad, no deben ser utilizados como reproductores, ya que ocasionarían un retraso en la preñez, al tener que efectuar más montas para preñar una vaca. También recomiendan que este tipo de toros deben ser descartados (Boggio 2014).

**Cuadro 2.** Causas de descarte de toros en sistemas de manejo extensivo por categoría, en predios ganaderos de la provincia Cercado (Beni, 2009-2013)

Causas de descarte	Categoría de predios						Descarte	
	PGP*		PGM*		PGG*			
	n	%	n	%	n	%	n	%
Baja motilidad	26	50.98	18	35.29	5	9.8	51	27.13
Estrechez pélvica	--	--	19	82.61	4	17.39	23	12.23
Ausencia motilidad	7	31.82	10	45.45	1	4.55	22	11.70
Criptorquidismo unilateral	3	23.08	6	46.15	3	23.08	13	6.91
Hipoplasia test/unilateral	1	9.09	6	54.55	4	36.36	11	5.85
Ausencia eyaculado	2	25.00	2	25.00	2	25.00	8	4.26
Est. anal moderada	1	14.29	5	71.43	1	14.29	7	3.72
Orquitis	--	--	3	42.86	4	57.14	7	3.72
Fimosis	--	--	--	--	6	100.00	6	3.19
Caquético	4	66.67	2	33.33	--	--	6	3.19
Corvejón corto	--	--	2	40.00	1	20.00	5	2.66
Baja concentra./esp.	1	25.00	--	--	--	--	4	2.13
Testículo pequeño	1	25.00	1	25.00	1	25.00	4	2.13
Ves. sem. pequeña	--	--	3	100.00	--	--	3	1.60
Torsión de pene	1	50.00	1	50.00	--	--	2	1.06
Edad / Viejo	--	--	--	--	2	100.00	2	1.06
Otras causas	--	--	--	--	--	--	14	7.45
<b>Total</b>	<b>51</b>	<b>27.13</b>	<b>81</b>	<b>43.09</b>	<b>39</b>	<b>20.74</b>	<b>188</b>	<b>100.00</b>

\* Categoría de Predios Ganaderos, Familiares, Pequeños, Medianos, Grandes



De igual forma, la estrechez pélvica sobresale es un carácter no deseado ya que puede ser transmitido a la descendencia e incidiría en la frecuencia de partos distócicos.

Capandeguy y Mattos (2014) indican que es necesario que los toros sean sometidos a una evaluación andrológica a fin de "... detectar anomalías como ausencia de motilidad, monorquidismo, asimetría testicular, ausencia de eyaculado ...". Por otra parte Ruíz *et al.* (2010), recomiendan descartar los toros con "... problemas de azoospermia y anormalidades de los espermatozoides ...".

De acuerdo a la categoría de predios, en los predios ganaderos medianos (PGM), se observa un mayor porcentaje de animales descartados (43.09%), factor relacionado con el mayor número de semovientes del total del hato de la provincia Cercado. Por otra parte, este segmento ganadero, en su manejo, adolece de esquemas de evaluación reproductiva que evitan una selección adecuada de toros.

La categoría de predios familiares presenta la menor proporción de descarte (9.04%) atribuible al tamaño del hato (menor a 100 bovinos), siendo más fácil detectar cualquier problema en la fertilidad, asociadas a las prácticas de manejo y la interacción entre el propietario y los animales.

## Conclusiones

- Las características reproductivas de los toros evaluados en predios ganaderos de la provincia Cercado en el Beni, se encuentran dentro de los parámetros zootécnicos de descarte (< 20%) por lo que se acepta la  $H_0$  ( $p \leq 0.05$ ).

- Una carencia importante es que no existe intervención en la selección de toros, como parte del manejo reproductivo, en los predios estudiados.
- La baja motilidad espermática, estrechez pélvica, ausencia de motilidad, criptorquidismo unilateral, hipoplasia testicular unilateral, ausencia de eyaculado, son las principales causas de descarte.
- La movilidad progresiva y movilidad masiva, están altamente correlacionadas, siendo influenciadas por el rango de edad y las características individuales de los toros.

## Referencias citadas

- Acuña C., Dominicis H., Narbaitz M., Cabodevila J., Callejas S., Cisale H. 2011. Evaluación de toros en rodeos de cría: ¿es necesario el examen de semen? *En línea*. Disponible en: [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/cria\\_toros/59-Evaluacion\\_toros.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/cria_toros/59-Evaluacion_toros.pdf) Consultado en octubre de 2012.
- Aguilera R. 2004. Ganadería en cifras. Trinidad: FEGABENI (Federación de Ganaderos de Beni y Pando).
- Boggio J. 2007. Evaluación de la aptitud reproductiva potencial y funcional del toro. *En línea*. Disponible en: [http://www.biblioteca.uach.cl/biblioteca\\_virtual/libros/2007/636.20824BOG.pdf](http://www.biblioteca.uach.cl/biblioteca_virtual/libros/2007/636.20824BOG.pdf) Consultado en diciembre de 2014.
- Boggio J. 2014. Evaluación de la aptitud reproductiva potencial y funcional del toro. Capacidad de servicio. *En línea*. Disponible en: [www.revistacebu.com/index.php?option=com\\_k2&view=item&id=238:ev aluacion-de-la-aptitud-](http://www.revistacebu.com/index.php?option=com_k2&view=item&id=238:ev%20aluacion-de-la-aptitud-)

- reproductiva-potencial-y-funcional-del-toro-capacidad- de-servicio &Itemid=425  
Consultado en diciembre de 2014.
- Capandeguy J., Mattos B. 2014. Principales hallazgos en la evaluación andrológica en toros de campo. Tesis de post grado. Universidad de la República. Facultad de Veterinaria. Montevideo Uruguay.
- Daza O. 2008. Formas de produção pecuária e distribuição da febre aftosa no departamento de Santa Cruz, Bolívia, 2000-2007. Tesis de post grado. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. Belo Horizonte, Brasil.
- Fernández L. 2015. Examen andrológico de toros. *En línea*. Disponible en: <http://www.inia.uy/Documentos/Privados/INIA%20Tacuaremb%C3%B3/entore%20planificado/Dilave.pdf>  
Consultado en octubre de 2015.
- Gasque R. 2008. Enciclopedia bovina; reproducción Bovina. México DF. FMVZ-UNAM. *En línea*. Disponible en: <https://es.slideshare.net/mushu fasaa/enciclopedia-bovina-mvz-ramn-gasque-gomez>  
Consultado en octubre de 2015
- Gómez M., Pérez G. 2008. La selección como herramienta para la mejora sostenible. *En línea*. Disponible en: [http://www.avpa.ula.ve/libro\\_desarrollosost/pdf/capitulo\\_13.pdf](http://www.avpa.ula.ve/libro_desarrollosost/pdf/capitulo_13.pdf)  
Consultado en abril de 2013.
- Ruíz B., Ruiz H., Mendoza P., Oliva M., Gutiérrez F., Rojas R., Villalobos A. 2010. Caracterización reproductiva de toros *Bos taurus* y *Bos indicus* y sus cruizas, en un sistema de monta natural y sin reposo sexual en el trópico mexicano. *Revista Científica UDO Agrícola*: 10(1): 94-102. *En línea*. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?cg10012>  
Consultado en diciembre de 2014.
- SENASAG-FEGABENI. 2010. Catastro ganadero. Trinidad, Beni Bolivia: Federación de Ganaderos de Beni y Pando (FEGABENI). Base de datos. Departamento Técnico (comunicación personal: Alex Canales).
- Silva M., Pedrosab V., Silva J., Herrera L., Eler J., Albuquerque L. 2012. Parámetros genéticos de las características andrológicas en la especie bovina. *Archivos Medicina Veterinaria* 44:1-11. *En línea*. Disponible en: <http://mingaonline.uach.cl/pdf/amv/v44n1/art02.pdf>  
Consultado en diciembre de 2014.
- Tibisay L., Ballarales B. 2005. La evaluación andrológica: justificación y métodos. *En línea*, Disponible en: [http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros\\_online/manual-ganaderia/seccion6/articulo18-s6.pdf](http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion6/articulo18-s6.pdf)  
Consultado en noviembre de 2016
- Vaca J. 2003. Análisis de dos sistemas de producción ecológica utilizando novillos Nelore y Criollo Chaqueño en el área integrada de Santa Cruz, Bolivia. Tesis de post grado. *En línea*. Disponible en: <https://helvia.uco.es/bitstream/handle/10396/353/13208421.pdf?sequence=1&isAllowed=y>  
Consultado en agosto de 2010

## Evaluación de diferentes crioprotectantes permeables, sobre las características seminales, post descongelación, en conejos

Gutiérrez Erlan; Machicado Richard; Gonzales Juana

Carrera de Ingeniería en Zootecnia e Industria Pecuaria, Universidad Pública de El Alto

E-mail de contacto: [erlangutierrez@hotmail.com](mailto:erlangutierrez@hotmail.com)

**Resumen.** El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la característica macroscópica y microscópica de semen en fresco y post-descongelado, utilizando medios crioprotectantes permeables. La metodología empleada fue del tipo experimental y se empleó la estadística descriptiva y un diseño completamente al azar, con los siguientes tratamientos: Tratamiento 1: Glicerol 5% (Gly); Tratamiento 2: Dimetilsulfoxido 21,31% (DMSO); Tratamiento 3: Gly+DMSO 13,16%, en un medio de dilutor de fracción A y B, empleando tris, ácido cítrico y yema de huevo. Se evaluó las siguientes características en semen fresco: volumen de eyaculado (VE), volumen sin gel (VSG), color, concentración espermática (CE), motilidad masal (MM), motilidad individual (MI) y vitalidad. La utilización de Glicerol y DMSO como crioprotectante permeables, permite crioconservar de mejor manera los espermatozoides del semen de conejo.

**Palabras clave:** Cunicultura; Inseminación artificial; Crioconservación

### Introducción

La crioconservación del semen es una técnica que se realiza cotidianamente. La misma consiste en conservar espermatozoides bajo condiciones estables y adecuadas, en las cuales puedan sobrevivir. De todas las biotecnologías aplicadas a la reproducción animal asistida, la crioconservación de semen es una de las que mayor impacto ha tenido sobre la producción animal, durante las últimas décadas.

El uso de la crio conservación ha contribuido al mejoramiento genético; así, muchos autores reportan datos poco alentadores sobre la sobrevivencia de espermatozoides pos-descongelado, con la aplicación de Glycerol (Blash *et al.* 2005). La utilización de crioprotectores externos e internos, permite la protección de las membranas durante los procesos de crio

conservación en general, los medios de congelación de semen de conejo, utilizan medios basados en el uso del medio tampón tris (hidroximetil aminometano), y varios autores reportan el uso de crioprotectores permeables, que parecen ofrecer los mejores resultados, como es el caso del Dimetilsulfoxido (DMSO) y la acetamida, debido a que el Glicerol no permite obtener los mismos resultados de sobrevivencia post descongelación (Mocé y Vicente 2009). Es por ello que el objetivo del presente estudio fue evaluar diferentes crioprotectantes permeables, sobre las características seminales post - descongelación de semen de conejo.

### Materiales y métodos

El estudio se realizó en el *Módulo de Investigación y Producción Pecuaria* de la Carrera de Ingeniería en Zootecnia e

Industria Pecuaria de la Universidad Pública de El Alto, durante los meses de mayo a agosto del año 2017.

La metodología de investigación empleada fue del tipo experimental.

**Semovientes.** Se utilizaron cuatro conejos machos, de raza Californiana, criados en jaulas suspendidas. Los animales fueron alimentados con heno de cebada y un concentrado a base de maíz, soya y afrecho, con 2.8 de EM/Mcal y 18% de proteína (Lebas et al. 1996).

**Composición del medio de congelación y el crioprotectante permeable.** El medio de congelación utilizado fue un dilutor en base a tris (hidroximetil aminometano) con la combinación de crioprotectantes permeables, utilizando la técnica de dos fracciones (fracción A sin crioprotectante permeable y fracción B con crioprotectante permeable) (Blash et al. 2005). Los cuadros 1 al 3 muestran la composición de cada uno de los crioprotectantes evaluados.

**Cuadro 1.** Tratamiento 1, crioprotectante permeable en base a Glicerol 5%

Componentes	Fracción A	Fracción B
Tris (g)	3,0285	3,0285
Ácido cítrico (g)	1,6907	1,6907
Glucosa (g)	0,8463	0,8463
Sucrosa (g)	3,4231	3,4231
YH (ml)	20	20
Gly (ml)	0	5
ABD (ml)	80	75
Volumen total (ml)	100	100

Gly: Glicerol; YH: Yema de huevo; ABD: Agua bi-distilada

**Cuadro 2.** Tratamiento 2, crioprotectante permeable en base a DMSO 21,31%

Componentes	Fracción A	Fracción B
Tris (g)	3,0285	3,0285
Ácido cítrico (g)	1,6907	1,6907
Glucosa (g)	0,8463	0,8463
Sucrosa (g)	3,4231	3,4231
YH (ml)	20	20
DMSO (ml)	0	21,31
ABD (ml)	80	58,69
Volumen total (ml)	100	100

DMSO: Dimetilsulfóxido; YH: Yema de huevo; ABD: Agua bi-distilada

**Cuadro 3.** Tratamiento 3, crioprotectante permeable en base a combinación Gly + DMSO 13,15%

Componentes	Fracción A	Fracción B
Tris (g)	3,0285	3,0285
Ácido cítrico (g)	1,6907	1,6907
Glucosa (g)	0,8463	0,8463
Sucrosa (g)	3,4231	3,4231
YH (ml)	20	20
Gly + DMSO (2,4+10,65 ml)	0	13,16
ABD (ml)	80	66,84
Volumen total (ml)	100	100

Gly: Glicerol; DMSO: Dimetilsulfóxido; YH: Yema de huevo; ABD: Agua bi-distilada

**Colección de semen.** Para la colección de semen, los machos fueron entrenados dos veces por semana durante un mes, con vagina artificial, construida de tubo con diámetro de 6 cm y un largo de 10 cm, con una funda interna adaptada de látex de condón masculino, al momento de la colección de semen se cargó la vagina

artificial con agua caliente a 45°C, y se lubricó con vaselina líquida (Gutiérrez *et al.* 2016).

**Evaluación de semen fresco y post descongelado.** Para el presente trabajo se utilizaron 30 eyaculados, de los cuales se evaluaron características macroscópicas y microscópicas, como ser: color de semen que se determinó mediante observación visual; la coloración del semen que va de blanco nacarado que indica una buena calidad seminal, lechoso y cristalino (Roca 2009). El volumen se determinó mediante el pesado de la muestra de eyaculado, y la diferencia del tubo colector (Hirai *et al.* 2002). La concentración espermática se realizó utilizando la técnica de recuento por medio de la cámara Neubauer (Santa *et al.* 1999). Para la motilidad masal, se depositó de 7 a 10  $\mu$ l en un portaobjeto atemperado y se observó a 40 aumentos, se valoró la velocidad con la que se mueven los remolinos de la superficie de la gota valorándose en una escala de puntuación de 0-5 (Estany *et al.* 1999). La motilidad individual progresiva, se determinó diluyendo el semen (fresco o post descongelado) con suero fisiológico a 37°C (cloruro de sodio al 0.9%), para lo cual se tomó 100  $\mu$ l de semen para 900  $\mu$ l de esta solución, luego se homogenizó con movimientos lentos de inversión del tubo y con una pipeta se procedió a colocar una gota en un portaobjeto, cubierto con un cubreobjetos, evaluándose el tipo de movimiento (progresivo, rectilíneo y uniforme) en una escala porcentual (Rigau *et al.* 2000). La vitalidad (en semen fresco o post descongelado) se evaluó considerando la relación de vivos/muertos como parámetro importante para determinar un valor porcentual, se utilizó la tinción supravital de Eosina-Nigrosina (Vicente y Castro 2009).

**Congelación de semen.** Terminada la evaluación macro y microscópica del semen de conejo, se procedió a envasar el semen diluido en pajillas de 0,25 ml (pajillas francesas) con una concentración de  $10 \times 10^6$  espermatozoides/pajilla. La congelación se realizó de acuerdo al protocolo desarrollado por Maxwell (1993).

**Evaluación del semen post descongelado.** Luego de transcurridos 60 días, se procedió a evaluar las muestras de semen congelado, retirándolas del termo criogénico una a la vez, se procedió a descongelarlas en baño maría a 37°C por espacio de 30 a 45 segundos, procediendo luego a realizar la evaluación del semen con un microscopio óptico a 400x, con una platina térmica atemperada a 37°C (Gutiérrez *et al.* 2016).

**Análisis estadístico.** Para el análisis estadístico se utilizó un diseño completamente al azar, para evaluar el efecto del crioprotectante permeable y un análisis de comparación de medias por medio de la prueba de Tukey al 5% ( $\alpha=0.05$ ). También se empleó estadística descriptiva para la evaluación de las características macro y microscópicas del semen fresco de conejo, utilizando para ello el software SPSS.

## Resultados y discusión

Los resultados de las características macro y microscópicas de semen fresco de conejo, son como sigue:

**Volumen:** El volumen de semen promedio obtenido fue de  $1.73 \pm 0.95$  ml que es superior a 1.2 ml reportado por Mocé *et al.* (2003) para macho adultos. Se atribuye a la diferencia de factores nutricionales, ya que en el presente trabajo se utilizó una ración suplementaria o *flushing* que

cubrió los requerimientos nutricionales del animal, permitiendo obtener las características seminales descritas, manteniéndose además de forma uniforme en todos los eyaculados el color blanco lechoso.

**Concentración:** La concentración reportada en el presente trabajo fue de  $34.9 \pm 12.52 \times 10^6$  epz/ml, dato superior al encontrado por Talavan *et al* (2011) quien reporta  $30 \times 10^6$  epz/ml. Se atribuye esta variación al factor nutricional al que fueron expuestos los conejos con la suplementación alimenticia.

**Motilidad individual.** Para la motilidad individual en semen fresco los datos reportados fueron  $89 \pm 2.5\%$  siendo próximo a los reportados por Talavan *et al* (2011)  $83.65 \pm 1.19\%$  quienes trabajaron con conejos de la raza neozelandesa.

En los cuadros 4 y 5 se observan las características de motilidad individual progresiva (MIP) y vitalidad post descongelación, del semen de conejo evaluado, sometido a tres tratamientos con agentes crioprotectores permeables: glicerol, dimetilsulfoxido y la combinación de ambos.

Por otro lado, luego de realizar la evaluación seminal post descongelamiento para la evaluación de los crioprotectores permeables sobre la MIP, se observó que las muestras en las que se empleó Glicerol, mostró el menor resultado ( $6.9 \pm 2.68\%$ ). En trabajos publicados por Blash *et al.* (2005), reportan que utilizando glicerol al 7%, se obtuvo una fertilidad de 33-50%, por otro lado con la utilización de DMSO al 23.4%, se obtuvo un valor de  $51.3 \pm 5.05\%$ , dato superior al reportado por Talavan *et al* (2011), quienes describen un  $7.63 \pm 1.93\%$  de motilidad individual progresiva, post desconge-

lamiento, utilizando DMSO en una proporción del 27.4%, debido posiblemente a la técnica de congelación y el nivel de crioprotectante empleado.

La MIP para semen de conejo post descongelado, mostró un promedio de  $6.9 \pm 2.68\%$  para Glycerol; con Dimetilsulfoxido se tuvo  $51.3 \pm 5.05\%$  mostrando diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). No hubo diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre la combinación de Gly + DMSO, a comparación de DMSO.

**Cuadro 4.** Evaluación de la motilidad individual progresiva (MIP) de post-descongelado de semen de conejo

Tratamientos	Promedio $\pm$ DS
Gly (1) %	$6.9 \pm 2.68$ a
DMSO (2) %	$51.3 \pm 5.05$ b
Gly + DMSO (3) %	$55.1 \pm 5.17$ b

Letras distintas indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ).

Gly: Glicerol; DMSO: Dimetilsulfoxido

La vitalidad de semen de conejo post-descongelado, mostró un promedio para Glycerol de  $6.1 \pm 2.61\%$  a comparación de Dimetilsulfoxido, que presentó un valor promedio de  $51.0 \pm 5.01\%$ , existiendo una diferencia significativa notable ( $p \leq 0.05$ ). Caso contrario se observó entre la combinación de Gly + DMSO y DMSO, al no encontrarse diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ), pero sí una notable diferencia porcentual numérica.

Los resultados de vitalidad de espermatozoides en semen fresco mostraron un  $82.5 \pm 3.01\%$ , sin embargo se nota una variación para semen post-descongelado para el tratamiento 1, 2 y 3 de  $6.9 \pm 2.68\%$ ,  $51.3 \pm 5.05\%$ ,  $55.1 \pm 5.17\%$ , respectivamente. Talavan *et al* (2011) para semen post-descongelado reportan

30.46 ± 2.67%, siendo los resultados obtenidos en el presente estudio, superiores al descrito, debido a la utilización de una menor concentración de DMSO.

**Cuadro 5.** Vitalidad de semen de conejo post-descongelado.

Tratamientos	Promedio ± DS
Gly (1) %	6.1 ± 2.61 a
DMSO (2) %	51.0 ± 5.01 b
Gly + DMSO (3) %	54.5 ± 5.15 b

Letras distintas indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ).  
Gly: Glicerol; DMSO: Dimetilsulfoxido.

## Conclusiones

- La utilización de Glicerol y DMSO como medio crioprotector permeable, para la congelación de semen de conejo, permite conservar de mejor manera a los espermatozoides luego de la descongelación.

## Referencias citadas

- Blash S., Chen L., Harvey M., Gavin W. 2005. Reestablishment of a transgenic rabbit line by artificial insemination using cryopreserved semen. *Lab. Anim.* 34: 61-63.
- Estany J., Camacho J., Baselga M., Blasco A. 1999. Selection response of Glywth rate in rabbits for Meta production. *Genet. Sel. Evol.* vol. 24, pp. 527-537.
- Gutiérrez E., Mendoza M., Mendoza J., Calle L., Cabrera R., Mamani N., Delgado M., Ramos B. 2016. Evaluación de la inseminación artificial sobre dos protocolos de superovulación en conejas. Carrera de Ingeniería en Zootecnia e Industria Pecuaria. Universidad Pública de El Alto. XXI Reunión Nacional de la Asociación Boliviana de Producción Animal ABOPA. pp. 237-241.
- Hirai M., Cerbito W., Wijayagunawardane M. 2002. The effect of viscosity of semen diluents on motility of bull spermatozoa. *Theriogenology.* vol. 47, pp. 1463-1478.
- Lebas F., Coudert P., Rochambeau H., Thébault R. 1996. El conejo, cría y patología. FAO. Roma, Italia.
- Maxwell. 1993. Recent attempts to improve the fertility of frozen ram semen inseminated into the cervix (review). *Wool Tech. Sheep Breed. (Australia)* 41: 291-302.
- Mocé E., Vicente J., Lavara R. 2003, Effect of freezing-thawing protocols on the performance of semen from three rabbit lines after artificial insemination. *Theriogenology Jun.* 60 (1): 115-23.
- Rigau T., Piedrafita J., Reverter A., Canal M. 2000. The rate of lactate production: a feasible parameter for the fresh diluted rabbit's semen quality analysis. *Animal Reprod. Sci.* vol. 43, pp.161-172.
- Roca T. 2009. Cubrición en cunicultura: Estudio para poder determinar el coste de la cubrición en monta natural (MN) e inseminación artificial (IA). *Publicaciones engormix.com.* vol. 3, pp. 4-5.
- Santa M., Gutiérrez E., López M., Cooling J. 1999. Effect of diluent additives and fertility of Angora rabbit semen. *AGly-Ciencia.* vol. 5, pp. 43-48.
- Talavan A., Mocé E., Viudes de Castro M. 2011. Efecto de distintos crioprotectores sobre los parámetros de calidad del semen descongelado de conejo.
- Vicente J., Castro M. 2009. Manejo reproductivo en el conejo. *En línea.* Disponible en <http://home.utad.pt/apez/APEZNorte/2000/Cunicultura/S4.htm>. Sessão IV - Reprodução. 2008  
Consultado el 6 de marzo de 2009.

# Evaluación de las características seminales macro y microscópicas de toros jóvenes Holstein en el Altiplano de La Paz

Gutiérrez Erlan; Gutierrez Leddy; Callisaya Orlando; Delgado Mijail; Ramos Blanca  
Carrera de Ingeniería en Zootecnia e Industria Pecuaria, Universidad Pública de El Alto

E-mail de contacto: [erlangutierrez@hotmail.com](mailto:erlangutierrez@hotmail.com)

**Resumen.** El presente estudio se realizó en la Granja Inmaculada Concepción, ubicada en la comunidad Sulkataca Baja del municipio de Laja (La Paz), a 3900 msnm, con el objetivo de evaluar las características seminales, macro y microscópicas, de semen de toros jóvenes Holstein. Para ello se emplearon tres toros de dos años de edad. Se utilizó estadística descriptiva y análisis de varianza para evaluar los resultados obtenidos. Los toros fueron entrenados para donar semen, una vez por semana durante dos meses, hasta iniciar el trabajo de evaluación seminal. Se obtuvieron seis colectas de semen por cada toro de forma semanal, por medio de la técnica de vagina artificial. Las variables macroscópicas estudiadas fueron: volumen de eyaculado, color y olor de semen y las variables microscópicas concentración espermática, motilidad masal, movimiento individual progresivo, vitalidad y anormalidades. Los resultados obtenidos mostraron que no hubo diferencias significativas entre cada toro evaluado ( $p \geq 0,05$ ). Se evidenció una capacidad reproductiva buena y similar a reportes de autores en el Altiplano Peruano.

**Palabras clave:** Reproducción animal; Inseminación artificial; Fertilidad

## Introducción

El proceso de mejora de la lechería bovina en el altiplano, se inició hace décadas con dos propósitos: mejorar los ingresos económicos de los pequeños productores y promover un mayor consumo de leche por parte de la población, tanto rural como urbana. Esto se traduce en mejor eficiencia de uso de los reproductores, aumentar el porcentaje de preñez y número de terneros. De ahí que para determinar la calidad seminal se han utilizado pruebas de laboratorio, como volumen, motilidad, concentración y porcentajes de espermatozoides anormales, lo que ha permitido apreciar el potencial de fertilidad de los toros, de tal modo de prevenir y evitar problemas de sub fertilidad e infertilidad (Vera 2001).

Por ello el objetivo del estudio fue evaluar las características macro y microscópicas en semen fresco de toros jóvenes Holstein en el Altiplano de La Paz.

## Materiales y métodos

El estudio se realizó en la granja *Inmaculada Concepción* de la comunidad Sulkataca Baja, ubicada en el departamento de La Paz, provincia los Andes, municipio de Laja, durante los meses de julio a noviembre del año 2017. La metodología empleada fue del tipo descriptivo.

**Material biológico.** Se utilizó tres toros de la raza Holstein, de 2 años de edad aproximadamente, con condición corporal 3 (1-5), con buen estado de salud. Se analizaron en total 18 muestras de semen, 6 de cada toro.



### **Selección y características del donador.**

Se seleccionó los toros realizando la cronología dentaria, calculando una edad aproximada de 2 años de edad en las cercanías de las comunidades del municipio de Laja y posteriormente se trasladó a la Granja Inmaculada Concepción.

**Colección de semen bovino.** Antes de la colecta de semen, se condujo a los toros al brete para recortar el vello prepucial y lavar el prepucio con agua bi-destilada, empleando jabón con un ph neutro. Para la colección seminal se utilizó una vagina artificial que consiste de un tubo cilíndrico de plástico rígido y resistente, de siete cm de diámetro y 35-50 cm de largo, recubierto internamente por una camisa de goma que se dobla sobre los extremos del cilindro, formando una cámara que se llenó con agua caliente (45°C) y aire, con el fin de proveer el estímulo adecuado de temperatura y presión, lográndose así la eyaculación.

En uno de los extremos del cilindro se acopló un embudo de caucho, unido a un tubo de vidrio graduado, protegido de la luz y del frío por una funda protectora (Muiño 2008, Morillo *et al.* 2012).

La colección de semen fue de una vez por semana. El operador primeramente ubicó a una vaca en el brete, seguidamente se introdujo al toro para estimular la libido, que consistió en realizar una monta sin penetración sobre la vaca, desviando el pene con la mano, sujetando del prepucio. En el tercer intento de monta del semental, se sujetó el pene por el prepucio y se lo dirigió hacia el orificio de ingreso de la vagina artificial, de tal forma que las condiciones físicas y mecánicas estimulen al toro a realizar el salto o golpe de riñón y consecuentemente la eyaculación (Carpio 2015).

## **EVALUACIÓN MACROSCÓPICA**

### **a) Potencial de hidrogeniones (pH)**

En toros, las muestras de calidad tienen un pH que oscila generalmente entre 6.5 y 6.8, el pH puede alcanzar la neutralidad (pH 7) e incluso una ligera alcalinidad, cuando aumentan las secreciones de las glándulas anexas. Para determinar el pH, se tomó 20 µl de semen bovino del tubo colector, fue colocado en un portaobjeto estéril, luego se empañó una tira de papel tornasol (indicador de pH) y se comparó con la tabla de verificación, para determinar el pH del eyaculado (Derivaux, 1982).

### **b) Volumen**

Se midió directamente utilizando un tubo de recolección graduado después de la colección de semen, teniendo como referencia los antecedentes reportados de eyaculados de toros de aproximadamente 2 ml en animales jóvenes y en animales adultos de 4 a 12 ml (Páez 2013).

### **c) Color**

Esta característica se evaluó por medio de la visualización en el laboratorio. El color del eyaculado depende del contenido de riboflavina, siendo normalmente desde blanquecino marfil hasta amarillento. Una coloración rojiza indica la mezcla con sangre fresca; si el color es pardo, indica la presencia de sangre más vieja (hemolizada), denominándose ambos tipos como hemospermia. Una coloración gris indica contaminación, los eyaculados con orina tienen una coloración amarillo-verdosa y son de apariencia acuosa. El pus en el eyaculado se reconoce frecuentemente por la presencia de flóculos, denominándose piospermia. (Agüero 2012).

### d) Olor

Se evaluó las muestras de semen recogidas higiénicamente de toros sanos y fértiles que tienen un olor catalogado como *sui generis*, es decir un débil olor aromático como a yema de huevo. Son motivo de rechazo cuando se da un olor a orín o pútrido (Morillo *et al.* 2012).

## EVALUACIÓN MICROSCÓPICA

### a) Motilidad masal

Por movimiento de masa se entiende, el movimiento en onda de todos los espermatozoides, observado en los eyaculados densos. Para su evaluación se tomó una gota de semen sobre una placa porta objetos a temperatura de 37°C y se observó en el microscopio, con aumento de 10x, sin colocar el cubre objeto; allí se observó la formación de “olas” que están directamente relacionadas con la concentración espermática, así a mayor cantidad de espermatozoides, se formara una mayor cantidad de olas. Se expresa en una escala de calificación de 0 a 5 (Barth 1994, Páez 2013, Catena y Cabodevila 1999), en base a los siguientes parámetros de clasificación de la motilidad masal en eyaculados bovinos (Catena y Cabodevila 1999):

Valor	Descripción
0	sin movimiento
1	ligera ondulación o vibración de cola, sin progresión
2	progresión lenta, incluyendo detención y comienzo de movimiento
3	movimiento progresivo continuo y moderada velocidad
4	movimiento progresivo, rápido

5	movimiento progresivo muy rápido, en el cual las células son difíciles de seguir visualmente
---	--

### b) Motilidad individual

La motilidad individual de una muestra de semen se expresa como el porcentaje de células móviles, bajo un campo microscópico. La prueba de la motilidad se realizó con la ayuda de un microscopio óptico (aumento 40x) a una temperatura de 37°C. Se diluye con una sola solución isotónica de NaCl al 0,9%, para observar individualmente a los espermatozoides con ayuda de una platina térmica, y se basa en los parámetros indicados en el Cuadro 1 (Vera 2001).

**Cuadro 1.** Referencias en la evaluación de la motilidad espermática individual sugeridos por la sociedad americana de teriogenología (en porcentaje)

Valor	Clasificación	Descripción
< 50	Pobre	Muy lento y errático
60 - 70	Aceptable	Lineal, lento y generalizado
70 - 80	Bueno	Lineal y moderadamente rápido
80 - 100	Muy bueno	Lineal rápido

Fuente: Vera 2001

### c) Vitalidad espermática

Se empleó la tinción de eosina y nigrosina al 2%, mezclando partes iguales de semen y la tinción, la lectura del frotis se realizó en un microscopio con lente de 40x, evaluando y contando los espermatozoides muertos (teñidos) y vivos (sin coloración).

#### d) Anormalidades

Es importante que las muestras de semen con un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales a inferior al 70%, vayan a ser descartadas para el proceso de congelación.

Se han establecido distintas clasificaciones de las anomalías espermáticas atendiendo a distintos criterios dependiendo de si se originan en el testículo (anomalías mayores) o a lo largo del tránsito epididimal o tras la eyaculación (anomalías menores) (Vera 2001).

#### e) Concentración espermática

La concentración espermática del semen se determinó mediante recuento celular directo de la cámara Neubauer, para lo cual se efectuó una dilución de 1:400, tomando 5  $\mu$ l del eyaculado (semen) y 995  $\mu$ l de solución salina al 1.6%.

Las mismas fueron diluidas y homogenizadas en un vaso precipitado. Luego de la dilución preparada, se tomó con la micropipeta, 10  $\mu$ l de muestra para depositar a ambos lados la cámara Neubauer armada.

La cámara cargada se dejó reposar por 5 minutos para la sedimentación de los espermatozoides y el conteo de 5 campos visuales, multiplicado por un factor de corrección de 12.800.000, proporciona la concentración espermática (Vera 2001).

**Análisis estadístico.** Para el análisis estadístico se utilizó estadística descriptiva y análisis de varianza para la evaluación de la homogeneidad de las muestras seminales.

## Resultados y discusión

Los resultados que se muestran a continuación (cuadros 2 y 3), se basan en el análisis estadístico de la variable de estudio del semen fresco en tres bovinos Holstein, a partir de características macro y microscópicas, considerando un total de 18 muestras analizadas, es decir 6 muestras de semen por cada uno de los tres toros utilizados en el ensayo.

### EVALUACIÓN MACROSCÓPICA

#### Volumen, color y olor

El volumen de semen obtenido por toro fue de:

Toro 1:  $4.98 \pm 0.86$

Toro 2:  $5.85 \pm 1.50$

Toro 3:  $5.20 \pm 1.45$

siendo valores similares a los resultados descrito por Damas (2010) y Carpio (2015), que reportaron un promedio de 5.30 ml y 4.67 ml de semen, respectivamente, en toros jóvenes.

Se atribuye la similitud de resultados a la afinidad de edad de los animales ya que en el presente trabajo se utilizó semovientes jóvenes de dos años de edad, que no habrían completado su crecimiento corporal ni la de sus órganos sexuales.

Además se mantuvo de forma uniforme en todos los eyaculados, un color blanco lechoso y el olor, cuya característica es *sui generis* para todas las muestras, como mencionan Nuñez y Rubio (2015), quienes describen que el semen fresco de bovino tiene un débil olor a leche fresca o yema de huevo.

**Cuadro 2.** Características macroscópicas de semen fresco de bovinos jóvenes de raza Holstein

Característica del semen	Nro. *	Toro 1	Toro 2	Toro 3	Significancia
Volumen (ml)	18	4.98 ± 0.86 a	5.85 ± 1.50 a	5.20 ± 1.45 a	ns
Color	18	Blanco lechoso			--
Olor	18	Sui generis			--

\* Número de muestras evaluadas (6 muestras de semen por cada toro)  
 Letras iguales por columna indican que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ )

### EVALUACIÓN MICROSCÓPICA

**Motilidad masal.** Para la motilidad masal (Cuadro 3), los resultados obtenidos en la presente investigación fueron superiores a los reportados por Rubio *et al.* (2009), quienes obtuvieron 3.25 de motilidad masal. Trigos (2017) y Brito y Reinoso (2017), obtuvieron un valor de 4.6 y 4.4 de motilidad masal, respectivamente, mientras que Veloz (2017), obtuvo un promedio que oscila de 3 a 5, idéntico a los valores reportados en esta investigación.

Las diferencias se deben probablemente a la edad, manejo ganadero y diferentes épocas de ejecución del trabajo.

**Motilidad individual progresiva.** Para la motilidad individual progresiva de los espermatozoides en semen fresco, Aguirre *et al.* (2012) reportaron valores de 82.7%; por otro lado Suarez (2015) obtuvo 78.75%, valor parecido al resultado obtenido en la presente investigación (referir al Cuadro 3).

Mungai *et al.* (2012) y Gonzales y Pallares (2013) quienes registraron 77% y 74.5%, respectivamente. Estos autores marcan una ligera diferencia con respecto a los resultados de la presente investigación.

**Vitalidad.** La vitalidad permite estimar la calidad seminal y la capacidad fecundante del macho. Este parámetro debe llegar a un mínimo de 70% ya que disminuiría los valores en semen post-descongelado. Crespo y Quintero (2014), al evaluar la vitalidad de los espermatozoides en semen fresco, obtuvo resultados de 72.7%, inferior a los reportados en esta investigación. Por su parte, Brito y Reinoso (2017) registraron 79.3%, similar al valor reportado en el presente trabajo (Cuadro 3).

**Anormalidades espermáticas.** Los valores encontrados (Cuadro 3) se asemejan a los de Rado (2006), quien trabajando en el Banco Nacional de Semen en Toros Holstein en el Perú, obtuvo valores de anomalía de  $7.75 \pm 1.29$ .

**Concentración espermática.** La concentración espermática de semen fresco de bovinos evaluados es similar entre los toros evaluados, probablemente esto se deba a que fueron de la misma edad. Cabrera y Pantoja (2012) encontraron para toros jóvenes, valores de 800 a  $922.50 * 10^6$ /ml de concentración espermática. Asimismo, Crespo y Quintero (2014); Palmieri *et al.* (2004) Brito y Reinoso (2017) obtuvieron, datos similares a los del presente estudio (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Características microscópicas de semen fresco de bovinos jóvenes de raza Holstein

Característica del semen	Nro. *	Toro 1 (Media ± DS)	Toro 2 (Media ± DS)	Toro 3 (Media ± DS)	Significancia
Motilidad masal (0 - 5)	18	4.56 ± 0.51 a	4.75 ± 0.44 a	4.62 ± 0.71 a	ns
Motilidad individual progresiva (%)	18	78.10 ± 4.96 a	79.49 ± 3.99 a	78.53 ± 5.13 a	ns
Vitalidad (%)	18	78.70 ± 3.95 a	80.02 ± 2.47 a	80.22 ± 5.23 a	ns
Anormalidades (%)	18	6.31 ± 1.63 a	6.04 ± 1.52 a	5.31 ± 1.57 a	ns
Concentración espermática (*10 <sup>6</sup> / ml)	18	995.33 ± 71.88 a	958.42 ± 131.5 a	1052.2 ± 145.5 a	ns

\* Número de muestras evaluadas (6 muestras de semen por cada toro)  
 Letras iguales indican que no existe diferencia significativa

## Conclusiones

- Las características macroscópicas y microscópicas de semen bovino fresco, colectado con vagina artificial, no mostraron diferencias significativas entre los tres toros y los resultados son similares a los reportados por otros autores en el Altiplano Peruano.

## Referencias citadas

Aguirre L., Uchuari M., Briceño P. 2012. Evaluación fenotípica y seminal con fines de conservación del "encerado" presente en la región alto andina del Ecuador. Centro de Biotecnología Reproductiva Animal CEBIREA-UNL. Ecuador.

Barth D. 1994. Evaluación de semen congelado. Manual del 1er Curso de Evaluación de Semen. Río Cuarto, Córdoba.

Brito D., Reinoso N. 2017. Evaluación cuali y cuantitativa de semen colectado con electro eyaculador de toros tratados con y sin tranquilizantes. Tesis de

grado. Medicina Veterinaria y Zootecnista. Universidad de Cuenca. Ecuador.

Cabrera P., Pantoja C. 2012. Viabilidad espermática e integridad del acrosoma en semen congelado de toros nacionales. Rev. Inv. Vet. Lima, Perú.

Carpio S. 2015. Evaluación de dos diluyentes para la crío-preservación de semen bovino: yema de huevo vs. leche descremada. Tesis. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. pp. 6.

Catena M., Cabodevila J. 1999. Evaluación de semen bovino congelado. Simposio Internacional de Reproducción Bovina, UNCPBA. Tandil, Buenos Aires. 9 p.

Crespo E., Quintero A. 2014. Calidad seminal de toros criollos limonero. Revista Científica FCV-LUZ. Universidad de Zulia. Zulia, Venezuela. pp. 518-525.

Damas R. 2010. Evaluación de dos dilutores comerciales en semen congelado de toros en el banco nacional. Tesis

- de grado. Ingeniería Zootecnista. Huancayo, Perú.
- Derivaux J. 1982. Reproducción de los animales domésticos. Acribia. España.
- Gonzales A., Pallares I. 2013. Eficiencia comparativa entre dos diluyentes para la criopreservación de semen en toros brahmán en el departamento de Antioquia. Trabajo de grado. Medicina Veterinaria. Universidad de La Salle. Bogotá, Colombia. 70 p.
- Morillo M., Salazar S., Castillo E. 2012. Evaluación del potencial reproductivo del macho bovino. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Maracay, Venezuela. 63 p.
- Muiño O. 2008. Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas CASA y Citometría de flujo: identificación de subpoblaciones espermáticas. Tesis de grado. Universidad de Santiago de Compostela. Galicia, España. 157 p.
- Mungai M., Sanches H., Ozanam F., Alves B., Mecarelli M., Mello P. 2012. Efeito de meios diluentes na viabilidade de semen congelado bovino.
- Nuñez A., Rubio A. 2015. Compensación de la calidad biológica del semen bovino post congelado utilizando como crioprotector leche al 2% de grasa, Andromed y Continental *One Step*. Proyecto especial de graduación. Escuela Profesional de Zamorano. Tegucigalpa, Honduras. 26 p.
- Palmieri R., Suarez D., Espitia A., Gonzales M., Prieto E. 2004. Variables seminales en toros criollos colombianos casteño con cuernos y romosinuano. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Córdoba. Montería, Colombia. pp. 5.
- Rado C. 2006. Prueba de integridad de membrana citoplasmática (endomosis) en células espermáticas de toros jóvenes. Tesis de pos grado. Universidad Nacional Agraria "La Molina". Lima, Perú. 87 p.
- Rubio J., Quinteros A., Gonzáles B. 2009. Efecto de la criopreservación sobre la integridad de la membrana plasmática y acrosomal de espermatozoides de toros. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zulia. Zulia, Venezuela. pp. 3.
- Suarez P. 2015. Fertilidad de semen congelado de toros nacionales Holstien usando los dilutores leche-yema, trisyema y triladyl. Tesis de pos grado. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú. 86 p.
- Trigoso M. 2017. Efecto del uso de dos dilutores (agua de coco y leche descremada) para la viabilidad espermática en semen fresco de bovinos. Tesis de grado. Ingeniería Zootecnista. Amazonas, Perú.
- Veloz D. 2017. Evaluación de la calidad espermática de reproductores bovinos mediante el uso de sistemas de evaluación seminal convencional y sistema Casa (análisis seminal asistido por computadora) y su repuesta con la fertilidad por inseminación artificial. Tesis de pos grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador. 75 p.
- Vera O. 2001. Evaluación seminal comparativa pre y post congelación en machos bovinos. **En:** Reproducción bovina. Cap. XV: 249-262. Gonzáles - Stagnaro (ed.). Fundación Girarz. Maracaibo Venezuela.

## Evaluación de las características seminales de la trucha *Arco Iris*, en la época no reproductiva, en el Centro Piscícola de Tiquina (IPD-PACU)

Gutiérrez Erlan; Sonco Jherson; Callisaya Orlando

Carrera de Ingeniería en Zootecnia e Industria Pecuaria, Universidad Pública de El Alto

*E-mail de contacto:* [erlangutierrez@hotmail.com](mailto:erlangutierrez@hotmail.com)

**Resumen.** El estudio se realizó en el Centro Piscícola de Tiquina (IPD-PACU), con el objetivo de evaluar las características seminales de la trucha *Arco Iris*, en la época no reproductiva, durante el mes de marzo de 2018. Se emplearon nueve truchas machos de dos años de edad. Se utilizó estadística descriptiva para evaluar los resultados obtenidos. Los peces fueron sometidos a un día en ayuno, antes de la colecta de semen, con la finalidad de disminuir la contaminación por fecas y/u orina, al momento de la obtención de semen. La sujeción se realizó con ayuda de una toalla de algodón, realizando presión a nivel de la cabeza y región caudal de la trucha, para la posterior limpieza de la zona genital. La técnica para obtener el semen de trucha fue por medio de masaje abdominal, realizado a nivel de los flancos abdominales, en dirección al poro genital, de donde se colectaron las muestras en tubos falcón de 50 ml. Las variables estudiadas fueron: volumen de eyaculado, color de semen, concentración espermática, movimiento individual progresivo, vitalidad, anormalidades y duración de la motilidad. Los resultados obtenidos muestran una sub fertilidad respecto a trabajos reportados, siendo la razón principal, la época en la que se realizó el estudio, la cual correspondió a una fase no reproductiva.

**Palabras clave:** Piscicultura; Fertilidad; Reproducción; Calidad seminal

### Introducción

Las truchas machos son más precoces. Así, están aptos a los 18 meses pero el 70% no son viables, la madurez sexual en los machos se da a partir de los 2 años y en las hembras a los 21 meses.

La cantidad y calidad seminal, dependen del vigor genético y a los 2 años y medio, las hembras llegan a su madurez sexual total. La madurez sexual es tanto más precoz cuando el pez se ha desarrollado rápidamente (Blanco 1995).

Los testículos en los peces son internos y longitudinales. Se originan como estructuras pares y permanecen así en la mayoría de las especies. Están suspendidos por

mesenterios alargados en la sección superior de la cavidad del cuerpo y se les puede localizar hacia los lados, a todo lo largo, o por debajo de la vejiga gaseosa, cuando este órgano está presente. El tamaño y color varían de acuerdo al estado de maduración de estos órganos y al grado de maduración del pez. Los testículos tienen un aspecto blanquecino y son más lisos que los ovarios, ocupando una posición muy similar a la de éstos (Hickman *et al.* 2002).

El objetivo del trabajo fue evaluar las características macroscópicas y microscópicas del semen de truchas de dos años, en época no reproductiva, en el Centro Piscícola de Tiquina, en el departamento de La Paz.

## Materiales y métodos

El estudio se realizó en el Centro Piscícola de Tiquina (IPD-PACU), que se encuentra en el departamento de La Paz, provincia Manco Kapac, en el cantón San Pablo de Tiquina, a 110 km de la ciudad de La Paz, a una altitud de 3810 msnm.

Para la evaluación de las características del semen de truchas Arco Iris machos, de 2 años de edad, se utilizaron 9 ejemplares machos, en época no reproductiva (marzo de 2018).

A nivel de laboratorio se utilizó tubos falcón de 50 ml, formol, suero fisiológico, tinción supra vital, porta y cubre objetos, microscopio y Cámara de Neubauer, entre materiales menores.

**Obtención del semen de trucha.** Los machos fueron sometidos a un día de ayuno, antes de la obtención de semen. El poro se limpió con una toalla para contrarrestar el exceso de agua. Se sujetó por la cabeza y región caudal, presionando en los flancos, desde atrás de los opérculos hacia el poro genital, presionando suave la región donde se localizan las gónadas, colectando el semen en un tubo falcón con una capacidad de 50 ml, para determinar el volumen extraído, evitando la contaminación de las muestras con orina y/o heces.

En los peces de corta edad es difícil diferenciar las hembras y los machos con una simple observación de los aspectos externos. Sin embargo, cuando se acerca la época de desove, a los dos años de edad, se puede diferenciar el sexo según las características que se indican a continuación:

### *Características de los machos en época reproductiva*

⇒ La coloración del cuerpo se vuelve algo negruzca y con abundante mucosidad.

⇒ El tronco del cuerpo alto y ancho reducido.

⇒ Boca grande, con desarrollo notorio de la mandíbula que se arquea hacia arriba.

⇒ El cuerpo se vuelve algo alargado en general (Hamamitsu 2002).

Los testículos crecen a su dimensión máxima, inmediatamente antes de la época de desove, ocupando 5% a 6 % del peso total del pez. Los espermatozoides maduran paulatinamente desde la parte cercana al poro urogenital (o gonóforo), por lo que es posible repetir varias veces el aprovechamiento de un mismo pez, durante la época de desove e inseminación (Ogawa s.f.)

El volumen se midió directamente dentro del recipiente de recolección, por lo cual se recomienda siempre utilizar un tubo aforado para recibir el semen. Esta característica se expresa en ml y su valor puede utilizarse posteriormente para calcular el número de espermatozoides presentes en la muestra, así como la cantidad de espermatozoides obtenidos. La cantidad de semen producida por un reproductor depende de muchos factores, incluyendo desde la especie hasta la habilidad del técnico que realiza su extracción (Guarnizo 2007).

A manera de referencia, el Cuadro 1 indica parámetros generales del semen de trucha Arco Iris, a diferentes edades, en base a un trabajo de Bastardo (2004), en Venezuela.



**Cuadro 1.** Características de semen de truchas Arco Iris de diferentes edades en Venezuela

Edad (años)	Volumen (ml)	Concentración (millones/ml)	Vitalidad (%)
2	4.16 ± 2.9	9.977.5 ± 4.382	73.0 ± 9.5
3	10.13 ± 3.3	6.361.3 ± 1.954	85.6 ± 13.7
4	11.97 ± 5.8	4.340.5 ± 1.559	79.5 ± 12.9
5	10.81 ± 4.4	5.697.2 ± 3.469	78.9 ± 9.3

**Color.** El color del semen es determinado por observación, el semen normal es homogéneo, cremoso y blanco lechoso.

**Concentración.** Los métodos utilizados para la determinación de la concentración espermática, son el recuento en Cámara de Neubauer y el establecimiento de la relación entre volumen celular / volumen de fluido seminal, obtenido por medio del espermocrito y por espectrofotometría. Siendo el más apropiado el número de espermatozoides por ml de semen. El semen altamente concentrado no siempre ofrece una elevada motilidad o altas tasas de fertilización. Este parámetro no es confiable para conocer la capacidad de fertilización del semen y puede variar en cada especie o en un mismo individuo, a lo largo de la vida (Araujo 2007).

Existen algunos rangos de valores (Bastardo 1992) encontrados en relación con el número de espermatozoides/ml, para la trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*):

$$9 - 16 * 10^6$$

$$26 * 10^6$$

**Motilidad.** La motilidad del espermatozoide es considerada como uno de los parámetros más utilizados, para determinar la calidad del semen. Los espermatozoides de los peces son inmóviles en el testículo. Los espermatozoides adquieren

progresivamente el potencial de movilidad a través de su pasaje por el conducto espermático, permaneciendo inmóviles hasta ser liberados al medio acuoso, donde diferentes factores interactúan para desencadenar una respuesta que produce la activación de la movilidad (Tabares *et al.* 2005).

**Tiempo de activación.** La duración e intensidad de la movilidad espermática, es evaluada junto con la movilidad, cronometrando el tiempo (segundos), que transcurre desde el momento en que se adiciona la solución activadora al semen, hasta la ausencia de movilidad espermática en la muestra. Esta duración varía ampliamente entre las especies de peces, coincidiendo en general, con el periodo fértil del espermatozoide (Cruz y Velasco 2005).

**Vitalidad.** La vitalidad se determinó a través del conteo de espermatozoides teñidos e inmóviles con la coloración diferencial, utilizando una solución supra vital de eosina - nigrosina, se determina el porcentaje de células espermáticas muertas o con daños graves en la integridad de su membrana celular. La toma de datos se basa en que los espermatozoides muertos son permeables a los colorantes y aparecen coloreados al ser observados al microscopio. Para esto se debe mezclar una pequeña gota de semen con la solución de los dos colorantes mencionados

anteriormente (50 µl), sobre una lámina porta objetos, limpia y seca; se deja secar al ambiente y luego es analizada al microscopio óptico (100 X) para realizar la diferenciación correspondiente (Guarnizo 2007).

## Resultados y discusión

Los resultados obtenidos de la evaluación seminal de la trucha Arco Iris, en época no reproductiva son los siguientes:

Volumen del semen promedio  
Obtenido:  $4.28 \pm 1.46$  ml

que es superior al valor de  $4.16 \pm 2.9$  ml, reportado por Bastardo (2004)

Color del semen (observado a simple vista): blanco lechoso

valor descrito como normal por Hamamitsu (2002).

Concentración de:  
 $1486.22 \pm 127.82 * 10^6$  epz/ml

dato superior al encontrado por Bastardo (1992) que indica  $26 * 10^6$  epz/ml, pero inferior al valor descrito por Hamamitsu (2002).

Concentración total:  
 $5566.86 \pm 484.47 * 10^6$

dato inferior al escrito por Araujo (2007) quien describe una concentración total de  $1.834,35 * 10^6$  epz/ml, debido a la época marcada de invierno, propia de la región de estudio del autor.

Motilidad individual:  $86.67 \pm 14.07\%$

dato similar al reportado por Hamamitsu (2002) con 85% de motilidad individual.

Vitalidad:  $84.4 \pm 6.75\%$

siendo superior a datos reportados por Bastardo (2004) ( $73.0 \pm 9.5\%$ ).

Anormalidad espermática:  
 $8.04 \pm 2.4\%$

Duración de la motilidad:  
 $342.11 \pm 84.16$  segundos

## Conclusiones

- La evaluación de las características seminales de la trucha Arco Iris, de dos años de edad, mostró valores inferiores a los reportados por otros autores, esto probablemente debido la época no reproductiva de la trucha, mostrando valores de sub fertilidad.

## Referencias citadas

- Araujo R. 2007. Criopreservación de semen de machos XX de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Universidad Técnica de Cotopaxi. Latacunga, Ecuador. 89 p.
- Bastardo H. 2004. Características del semen de truchas arco iris, bajo condiciones de cultivo en Mérida, Venezuela. pp. 277-288.
- Bastardo H. 1992. Semen de la trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*): concentración y volumen durante un periodo reproductivo, en Mérida, Venezuela. Veterinaria Tropical. 17: 53-66.
- Blanco M. 1995. La trucha: cría industrial. Madrid: Mundí - Prensa (2da ed.). pp 40, 48, 54, 139. En línea. Disponible en: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream>  
Consultado en junio de 2018.
- Cruz P., Velasco Y. 2005. Determinación de las características seminales y seminación artificial en peces. Re-

- producción de peces en el trópico. INCODER. Bogotá, Colombia. pp. 175-195.
- Guarnizo M. 2007. Caracterización seminal y ensayos preliminares de crioconservación de semen de bagre rayado. Universidad de Los Llanos, XIII Jornada de Acuicultura. Meta, Colombia. pp. 70-74.
- Hamamitsu. 2002. Producción de semilla de trucha Arco Iris. La Paz, Bolivia. 35 p.
- Hickman C., Roberts L., Larson A. 2002. Principios Integrales de Zoología. 14ava. Edición. Mc Graw-Hill. Interamericana de España. pp. 45-49.
- Ogawa H. s/f. Reproducción de la trucha arco iris, Manual técnico. 6 p.
- Tabares C., Tarazona A., Olivera M. 2005. Fisiología y activación de espermatozoides en peces de agua dulce. Universidad de Antioquia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Medellín, Colombia. pp. 149-161.

# Relación de circunferencia escrotal y motilidad individual espermática, en toros Brahman y Nelore (Beni, Bolivia 2016)

Landivar Carlos; Rosas Camilo; Suárez Armando

Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad Autónoma del Beni “José Ballivián”

E-mail de contacto: camilo\_antonio\_@hotmail.com

**Resumen.** El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar la relación entre la circunferencia escrotal y la motilidad individual espermática, en toros Brahman y Nelore en Beni, Bolivia (2016). En las estancias ganaderas “Guapango” y “San Carlos”, ubicadas en las provincias Cercado y Marbán, respectivamente, se realizó el examen andrológico a 89 animales de raza Brahman y 31 de raza Nelore, haciendo un total de 120 bovinos mayores de tres años. Se obtuvo un promedio de circunferencia escrotal de 35 cm, con un rango entre 27 a 43 cm. No se encontró correlación entre la circunferencia escrotal y la motilidad individual espermática ( $p \geq 0.05$ ). Se evidenció que no existe un protocolo de selección al momento de elegir los machos que entran al entore. El promedio de la circunferencia escrotal de los toros, se encuentra dentro de los parámetros de las razas estudiadas, en animales de más de tres años de edad. No existe en los productores el criterio de uniformizar las características raciales que deberían tener los toros que utilizan en la reproducción. Los productores ganaderos no toman en cuenta los criterios de selección, principalmente en el aspecto reproductivo que deben tener los toros empleados para realizar la función productiva del rebaño bovino.

**Palabras clave:** Examen andrológico; Calidad espermática; Reproducción; Sementales

## Introducción

En el departamento del Beni existen 2.792.802 cabezas de ganado bovino de las cuales el 45% (1.256.761) aproximadamente son hembras en edad reproductiva o listas para la monta. Para dicha actividad se necesitan aproximadamente el 5 % de toros para cumplir con los objetivos de una estancia dedicada a la producción de bovinos de carne (Aguilera 2004).

La actual población de ganado bovino de corte en el país es de 7.700.000 cabezas donde el 80% es ganado cebuino (anelorado), de las cuales 1.645.000 son hembras. Tomando en cuenta la relación toro/vaca de 1/20 promedio a nivel nacio-

nal, se encuentran en servicio 82.250 toros, si se realiza la reposición recomendada del 20% anual de los reproductores (toros) en servicio, el requerimiento asciende a 16.450 toros por año (ASOCEBU 2003).

La principal función de un semental en un hato es la de lograr preñar al mayor número de vacas, sobre todo en ambientes tropicales, donde más del 90% de los sistemas de producción utilizan la monta natural como técnica reproductiva; sin embargo, para lograr este objetivo, el toro, además de un apropiado deseo sexual (libido), debe producir suficientes espermatozoides con excelente viabilidad para garantizar el éxito de la fertilización (Mabrid - Bury 1992).

Diversos estudios han mostrado que bajo condiciones tropicales, del 15% al 30% de los toros utilizados para monta natural tienen una calidad de semen no satisfactoria o dudosa, por tanto para evitar esta pérdida de tiempo, dinero y esfuerzo es aconsejable que a todos los toros se les evalúe la capacidad reproductiva cuando mucho un mes antes de que se lleve a cabo la venta o la monta (Lamothe 1984).

Existen muchos factores que afectan al bajo porcentaje de preñez en la ganadería de nuestro medio, uno de ellos es la calidad seminal y fertilidad de los toros reproductores. Esta investigación contribuyó con datos relacionados entre la circunferencia escrotal y la motilidad individual espermática de los toros, proporcionando un aporte al conocimiento para beneficio de los productores ganaderos.

## Materiales y métodos

El trabajo se realizó en la unidad productiva “San Carlos”, de la Universidad Autónoma del Beni “José Ballivián”, ubicada en el cantón Loreto, provincia Marbán, a 53 km de la ciudad de Trinidad en dirección sureste; en las coordenadas 64°38'15" de longitud Oeste y 15°11'58" de latitud Sur, a 156 msnm. También se trabajó en el establecimiento ganadero “Guapango”, ubicado en el cantón San Javier, provincia Cercado, coordenadas 64°53'45,57" de longitud Oeste y 14°42'50,51" de Latitud Sur a 157.49 msnm (AASANA 2016).

En campo, se examinaron 120 toros mayores de 3 años, en edad reproductiva: 81 de raza Brahman y 39 de raza Nelore, destinados al servicio de monta natural, los mismos fueron sometidos al examen físico-clínico externo, en el cual se tomó en cuenta la condición corporal dentro de la escala (1-5).

Se midió la circunferencia escrotal; utilizando escrotímetro y ejerciendo una ligera tensión en la parte media de los testículos para obtener medidas correctas.

Para la toma de muestras de semen, el animal fue inmovilizado en el cepo y se introdujo el electro eyaculador en el recto, procediendo a iniciar choques eléctricos para estimular las glándulas sexuales accesorias. Por medio de estas descargas eléctricas se logró la erección del pene y al mismo tiempo la eyaculación, posteriormente se colocó portaobjeto cerca del pene para recibir el eyaculado e inmediatamente se realizó la evaluación macroscópica y microscópica del semen colectado.

El eyaculado obtenido se evaluó macroscópicamente mediante la observación visual de las características de color y aspecto. Para la evaluación microscópica se tomó una gota de semen directamente con el portaobjetos, seguidamente con la ayuda del microscopio óptico, se observó la motilidad masal e individual de los espermatozoides.

El método estadístico utilizado fue el de correlación lineal simple individualizada, descrito por Daniel W., el cual se detalla a continuación:

$$y = a + bx$$

donde:

*y*: Calidad seminal

*a*: Ordenadas en el origen

*b*: Línea de regresión

*x*: Circunferencia escrotal

$\gamma$  = Coeficiente de correlación lineal

## Resultados y discusión

A través del análisis estadístico se determinó que el Coeficiente de Correlación fue igual a  $r = -0,02$ , que indica que no existe correlación entre la variable de circunferencia escrotal y motilidad individual espermática de los toros que participaron del ensayo.

Sin embargo, de acuerdo a los resultados obtenidos por otros investigadores, dichas variables sí se encuentran asociadas de manera positiva.

La diferencia que existe entre el presente trabajo y el de otros autores, podría deberse a la falta de selección y a la disimilitud de los animales participantes del ensayo, ya que no se tomó en cuenta la diferencia de edad, procedencia, el estado general y mucho menos un análisis andrológico que presentaban los animales sujetos a la evaluación que se realizó, es decir que la falta de presión aplicada a la selección, no existió de manera previa en los toros participantes del trabajo.

**Circunferencia escrotal.** La circunferencia escrotal de los toros tuvo una media de 35 cm, siendo el valor mínimo 27 cm y un máximo de 43 cm (Cuadro 1).

**Motilidad espermática.** Con relación a la motilidad espermática, el 58% de los toros presentó una motilidad muy buena, el 30% buena y el 11% presentó una mala motilidad.

En el análisis se tuvo un coeficiente de variación del 83%, lo cual indica la heterogeneidad de los animales de los que se obtuvo la muestra, pues la desviación estándar de los mismos es estadísticamente similar al promedio, lo que corrobora el coeficiente de variación de 83% que estadísticamente se interpreta como altamente significativo, lo que lleva a la conclusión que efectivamente los datos de la investigación provienen de una muestra poblacional heterogénea.

Estos valores son un indicativo de que en el departamento, con fines reproductivos, los machos que ejecutan esta acción no son seleccionados apropiadamente, lo que representa y pone de manifiesto los bajos índices zootécnicos correspondientes a la preñez y parición.

Tomando en consideración que en el Beni, los toros pueden entrar en servicio a partir de los tres años de edad, y relacionando la circunferencia escrotal con la motilidad espermática, en el presente trabajo se determinó que no existe correlación lineal positiva, sin embargo esta variable sometida a un proceso de selección riguroso, debería tener una asociación positiva.

Se considera que la carencia de esta tendencia en este trabajo, se debe a la ausencia de selección que existió al momento de elegir los machos que entraron al entorno.

**Cuadro 1.** Relación de circunferencia escrotal y motilidad individual espermática en toros reproductores de razas Brahman y Nelore (Beni, Bolivia, 2016)

Tamaño de la muestra	Edad	Promedio de circunferencia escrotal (cm)	Motilidad individual espermática
120 Toros	≥ 3 años	35 cm	75%

**Descarte de animales.** De manera global, se tuvo un total de 13.3% de descarte (16 de 120 animales), todos por problemas reproductivos en toros de las dos razas Brahman y Nelore (Beni, Bolivia, 2016). Entre las causas que merecieron el descarte de los animales (Cuadro 2), de manera mayoritaria correspondieron a la hipoplasia testicular, monorquideo, vesículas fibrosadas, parafimosis.

**Cuadro 2.** Causas de descarte por problemas reproductivos en toros Brahman y Nelore (Beni, Bolivia, 2016)

Causas del descarte	Nro.	%
Hipoplasia testicular	9	56.25
Parafimosis	1	6.25
Fractura espina escapular	2	12.50
Monorquideo	2	12.50
Ulceras en escroto	1	6.25
Fibrosis cola de epidídimo	1	6.25
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>100.00</b>

Debido a que se considera que estas causas de descarte son insuficientes, se puede aseverar que se debería implementar un protocolo de descarte de los machos que van al entore, que contemple de manera general las siguientes condiciones.

- a) Que no tengan enfermedades infecciosas reproductivas como Bruceosis, IBR, DVB.
- b) Que carezcan de defectos genéticos genitales visibles.
- c) Que no tengan defecto de conformación corporal.
- d) Que al examen andrológico presenten una buena calificación.

e) Que de acuerdo a la raza presenten adecuada circunferencia escrotal.

## Conclusiones

- Desde el punto de vista estadístico no se encontró correlación lineal entre la circunferencia escrotal y la motilidad individual espermática en los toros del presente trabajo.
- Se evidenció que no existe un protocolo de selección al momento de elegir los machos que entran al entore.
- El promedio de la circunferencia escrotal de los toros tomados en cuenta se encuentran dentro de los parámetros que indican las razas Brahman y Nelore para animales de más de tres años de edad.
- No existe en los productores el criterio de uniformizar las características raciales que deberían tener los toros que utilizan en la reproducción.
- No se tiene un protocolo por parte de los productores ni de las autoridades encargadas de la actividad ganadera que norme las causales para descartar a los toros e impedir la participación de los mismos en la actividad productiva de la eficiencia.

## Referencias citadas

- AASANA. 2016. Datos Meteorológicos. Beni, Bolivia.
- Aguilera R. 2004. La ganadería en cifras. Federación de Ganaderos de Beni y Pando. Trinidad, Beni, Bolivia.
- ASOCEBU. 2003. Anuario de registro estadístico. Santa Cruz, Bolivia.

Lamothe C. 1984. Determinación de los parámetros del semen de toros de razas cebuinas en el Estado de Veracruz. Tesis de grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Veracruzana. México.

Madrid - Bury N. 1992. Desarrollo testicular y pubertad en toretes mestizos. Ganadería mestiza de doble propósito. Editorial González-Stagnaro. Venezuela.



## Evaluación de la fertilización *in vitro* en ganado bovino en condiciones de altura

Mamani Ayleen; Ayala Celso

Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés

E-mail de contacto: [ayleenuarachi@gmail.com](mailto:ayleenuarachi@gmail.com)

**Resumen.** El objetivo del trabajo fue evaluar la fertilización *in vitro* de ovocitos bovinos en condiciones de altura (3600 msnm) mediante el uso de un dispositivo (tapper) no convencional portátil de 500 ml de capacidad. Se realizó en el Laboratorio de Criopreservación de Semen en la Estación Experimental Choquenaira de la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés. Se obtuvieron 390 ovocitos de categoría A, B y C que fueron aspirados a partir de ovarios de vacas beneficiadas en el matadero Municipal Los Andes de la ciudad de El Alto. Para la maduración *in vitro*, se consideró el uso de líquido folicular como medio de maduración adicionando Hormona Luteinizante (LH). Todos los ovocitos se incubaron a 38.5°C, 5% de CO<sub>2</sub> y 95% de humedad, durante 24 horas. Posteriormente se realizó la evaluación morfológica de maduración en un microscopio estereoscopio a 200X. Para la fertilización *in vitro*, los ovocitos maduros fueron fertilizados con semen capacitado de toro, en los siguientes medios de fertilización: FERT-TALP y SPERM-TALP evaluados a las 24 horas post fertilización. Para el desarrollo celular, los presuntos cigotos fueron cambiados a medio de cultivo celular cada 48 horas. En la maduración *in vitro* se obtuvo una tasa del 61.79% con un desvío estándar de 4.96%. En la fertilización *in vitro* se obtuvo una tasa del 27.39% y un desvío estándar de 6.78%. En cuanto al desarrollo celular, las tasas de clivaje son: 13.64% (2 células), 10.61% (4 células), 9.09% (8 células), 4.55% (16 células) y 2.27% (mórula), respecto al total de ovocitos fertilizados.

**Palabras clave:** Reproducción; Inseminación artificial; Ovocitos bovinos

### Introducción

En Bolivia la población de bovinos constituye la fuente principal de producción, exportación y alimentación. Como consecuencia surge la necesidad de desarrollar programas para el mejoramiento genético en bovinos.

Las biotecnologías aplicadas a la reproducción animal posibilitan el incremento de los índices productivos, a través de las mejoras introducidas en las diferentes especies animales de interés zootécnico (Gardon 1999).

El objetivo principal de las técnicas reproductivas modernas en el ganado vacuno, son aumentar la eficiencia reproductiva y la capacidad de ordeño o en la calidad de las crías que nacen de las vacas que producen, en términos de tecnologías reproductivas en el ganado, también ofrecen en gran medida, el potencial de ampliar la gama de material genético que puede ser almacenado para su posible uso en el futuro (Gordon 2003).

La producción *in vitro* de embriones representa una interesante opción en la producción de ganado bovino. Los progresos obtenidos en maduración y fertilización *in vitro* de ovocitos bovinos, posi-

bilitan la utilización de esta técnica en planes reproductivos en ejemplares de élite. Otros aspectos no menos importantes en aplicación comercial de estas tecnologías incluyen, la obtención de crías en hembras de alto valor genético que presentan problemas reproductivos, así como la producción de animales transgénicos (Gardon y Tartaglione 1995).

La colección de ovocitos permite recuperar y aprovechar folículos no ovulatorios, que bajo condiciones fisiológicas se tornarían en folículos atrésicos. La obtención de ovarios provenientes de vacas sacrificadas en el matadero suministra una fuente abundante de ovocitos obtenidos a bajo costo, provenientes de animales en diferentes estados del ciclo estral, que pueden ser madurados, fertilizados y cultivados *in vitro* hasta estados avanzados del desarrollo embrionario.

El desarrollo potencial de embriones se encuentra afectado por varios factores, entre los cuales podemos incluir el medio de cultivo, calidad ovocitaria, la densidad ovocitaria, la presencia de suero y los factores de crecimiento paracrin y autocrinos embriotróficos en el desarrollo normal (Makaverich y Markkula 2002). La producción *in vitro* de embriones ha adquirido importancia para ser usada como alternativa o en combinación con programas de ovulación múltiple y transferencia de embriones debido a sus ventajas y flexibilidad (Viana y Camargo 2007).

Se pretende enfocar la fertilización *in vitro* (FIV) al mejoramiento de bovinos criollos con las mejores características productivas, vigor híbrido, adaptabilidad, rusticidad, fertilidad y al mismo tiempo puedan enfrentar el mal de altura que es una condicionante para la expresión de estos animales.

Mediante esta técnica se puede prolongar la vida reproductiva de animales genéticamente valiosos, inmaduros o muy viejos, creación de bancos de gametos provenientes de animales seleccionados por excelencia productiva y/o adaptabilidad, permite obtener descendientes de hembras de elevada calidad genética que deban ser sacrificadas por padecer enfermedades, infertilidad, por su avanzada edad o durante los programas de erradicación de enfermedades infecciosas (tuberculosis, brucelosis, leucosis...). Así también aprovechar la rusticidad de animales en altura y poder obtener embriones de padres adaptados a las condiciones ambientales del altiplano boliviano con las características productivas deseadas.

Los objetivos de la investigación fueron:

- Evaluar la fertilización *in vitro* de ganado bovino en condiciones de altura a 3870 msnm.
- Recuperar y seleccionar ovocitos a partir de vacas sacrificadas.
- Evaluar tasa de maduración de ovocitos.
- Evaluar los índices de fertilización *in vitro* y su desarrollo celular en bovinos.

## Materiales y métodos

El presente estudio se realizó en las instalaciones del laboratorio del criopreservación de semen de la Estación Experimental de Choquenaira, dependiente de la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés, ubicado en el Altiplano Central, provincia Ingavi del departamento de La Paz, al sur de la población de Viacha, aproximadamente a 32 km al Sur Oeste de la ciudad de La Paz y a 6 km de la población de Viacha.

### **Recuperación de ovarios del matadero**

Luego del eviscerado del animal, se separó los ovarios derecho e izquierdo del tracto reproductivo, para el transporte se utilizó bolsas que contenían suero fisiológico (0.9% NaCl) + antibióticos (100 UI ml<sup>-1</sup> de penicilina + 1mg de estreptomycin), dentro de un termo con agua atemperada a 35°C. Los ovarios fueron transportados hacia el laboratorio dentro de 2 a 3 h, después de su recuperación.

### **Colección de ovocitos**

La aspiración de los complejos cúmulus ovocitos (CCO's), se realizó por punción de los folículos de 3 a 8 mm de diámetro con ayuda de una aguja 18G x 1".

El contenido de la aspiración (fluido folicular + ovocitos) fue vertido a un tubo de ensayo, atemperado a 38,5°C dentro de un baño maría; terminando de aspirar todos los folículos, se dejó el tubo en reposo por 10 a 15 minutos para separar el sedimento. Seguidamente se procedió a aspirar el líquido sobrenadante.

El sedimento se vertió a la placa Petri, que contenía 2 ml de PBS con el 10% de suero fetal bovino y gentamicina, procediéndose a la búsqueda de ovocitos en el microscopio estereoscopio. Luego con ayuda de una micropipeta se aspiraron cuidadosamente los ovocitos para trasladarlos a otra placa Petri que contenía 2.5 ml de PBS+10% SFB sobre una platina térmica a 38.5°C para realizar la evaluación y selección de ovocitos.

### **Evaluación y selección de ovocitos**

En la placa Petri, los ovocitos fueron clasificados teniendo en cuenta para la categorización el número de capas de células del cúmulus y la apariencia del

citoplasma, la categorización empleada fue de acuerdo a la recomendación por Leibfried y First (1979).

### **Método de maduración *in vitro***

#### ***Preparación de material y equilibrio del medio para la maduración de ovocitos***

Se acondicionó un envase tipo tapper rectangular de plástico con un volumen de 500 ml, adaptado por Suzuki *et al.* (1999). Dentro de la cámara se colocó una placa Petri, con 4 gotas de aproximadamente 50µl de medio de maduración cubierto con aceite mineral.

Una vez tapado el envase se procedió a extraer 25 ml de aire del interior del tapper, se aseguró con la pinza hemostática la funda acondicionada al envase, el CO<sub>2</sub> requerido (5%) se obtuvo por adición de 5 ml de agua destilada a 0.25 g de granulo efervescente dentro de un pequeño envase de plástico el cual liberaba CO<sub>2</sub> dentro de la incubadora portable. El medio de maduración fue equilibrado durante 1 a 2 horas a una temperatura de 38.5°C con un 5% de CO<sub>2</sub>.

#### ***Maduración de ovocitos***

Los ovocitos seleccionados como aptos, fueron transferidos a otra placa Petri que contenía microgotas del medio de maduración. Seguidamente la placa Petri conteniendo los ovocitos y el medio de maduración fue colocada cuidadosamente dentro del envase tipo tapper. Luego se procedió a cerrar el envase y se incorporó el tapper dentro de la cámara de incubación durante 24 horas para su correspondiente maduración, con una permanente supervisión.

### ***Evaluación morfológica de la maduración***

La evaluación se inició retirando las muestras de la incubadora e inmediatamente colocados sobre la platina térmica a 38,5°C; los ovocitos maduros después de 24h de incubación, fueron evaluados tomando en cuenta criterios que aseguraron que ocurrió la maduración (De Loos *et al.*, 1992):

- Expulsión del primer corpúsculo polar.
- Expansión y elasticidad del cumulo celular.
- Aparición del espacio perivitelino.

### **Fertilización *in vitro* de ovocitos**

#### ***Equilibrio del medio de fertilización***

Para el equilibrio del medio de fertilización FERT-TALP se realizó el mismo procedimiento usado para equilibrar el medio de maduración. Dentro de la incubadora portátil se colocó una placa Petri, con 5 gotas (aproximadamente 50 µl) de medio de fertilización cubierto con aceite mineral durante 2 horas a una temperatura de 38.5°C con un 5% de CO<sub>2</sub>.

#### ***Preparación del semen de toro y capacitación de los espermatozoides***

Para la fertilización *in vitro* se utilizó semen congelado de toro, la capacitación de los espermatozoides se realizó siguiendo los siguientes pasos: Se extrajo la pajuela de semen 0.5 ml y se realizó la descongelación sumergiéndola en baño maría a 37°C por 30 segundos. La totalidad del contenido de la pajilla (semen) fue vertido a un tubo de ensayo precalentado que contenía 1 ml medio de lavado de espermatozoides (SPERM-TALP) y

protegido dentro de baño maría a 37°C. Esta mezcla se dejó en baño maría durante 1 hora aproximadamente, para realizar el *swin-up*. Pasado este tiempo se extrajo sólo de la superficie y con mucho cuidado en otro tubo.

La muestra fue llevada a la centrifugadora a 3500 rpm durante 10 minutos. La porción rica en espermatozoides (sedimento) fue re-suspendida en el tubo de ensayo al cual se le agrego 1ml del medio de fertilización FERT-TALP, conteniendo heparina para la capacitación respectiva por 10 min en baño maría a 38.5°C.

La técnica de lavado de semen empleado fue un *swin-up* modificado a las condiciones de nuestro laboratorio, del cual aprovechamos los espermatozoides de la superficie ya que gracias a la capacitación espermática los espermatozoides buenos tienden a ascender hacia la superficie y los espermatozoides defectuosos y muertos se encuentran en el sedimento.

#### ***Fertilización *in vitro****

Los ovocitos maduros se colocaron a otra placa Petri conteniendo medio de fertilización; con adición de PHE la cual se dejó equilibrando por 10 minutos.

En sincronía, la capacitación espermática y el equilibrio del medio de fertilización se adicionaron 2 µl de semen capacitado obtenido de la superficie del tubo, a la placa Petri que contenía los ovocitos.

La placa que contenía el medio de fertilización, los ovocitos maduros y espermatozoides capacitados fueron cuidadosamente colocados dentro del envase tipo tapper. Luego se procedió a cerrar el envase. Pasadas 24 horas se lavaron los ovocitos en medio de cultivo, previamente equilibrado por 1 hora y cultivados en

una placa Petri con medio de cultivo (TCM-199 + 10% SFB), previamente los ovocitos fueron parcialmente desnudados por aspiración mecánica y cuidadosamente colocados a la incubadora dentro del envase tipo tapper a 38.5°C y 5% CO<sub>2</sub> por 48 horas, con una permanente supervisión hasta su evaluación.

### ***Evaluación morfológica de la fertilización***

Los probables cigotos incubados en placa Petri, fueron evaluados con ayuda de un microscopio, donde la fertilización fue definida de la siguiente manera: Se procedió a aspirar los probables cigotos con ayuda de una micropipeta y vertidos a otra placa Petri que contenía PBS, donde se procedió a desnudarlos por completo por pipeteo. Finalmente se evaluó los presuntos cigotos en el microscopio.

En general, se considera fertilizado a aquel ovocito que ha emitido el segundo corpúsculo polar y se visualizan los pronúcleos masculino y femenino y la cola espermática (Del Campo, 1993). Sin embargo, no siempre es posible la visualización de todas las estructuras y se propone la formación de las primeras blastómeras como criterio (Fukui 1990).

Por lo tanto se consideran como tasa de fertilización la suma de ovocitos con expulsión del segundo corpúsculo polar + formación de las primeras blastómeras.

### ***Evaluación del desarrollo celular***

Los embriones incubados y puestos en medio de cultivo para desarrollo celular fueron cambiados de medio cada 48 horas y evaluados post fertilización, donde el desarrollo celular fue definido de la siguiente manera: 48 horas después de la fertilización se observó una división de

dos células; después de 72 horas de la fertilización se observó con ayuda de un microscopio una división de 4 células. A 96 horas posteriores a la fertilización, se observó una división de 8 células. Pasadas 120 horas luego de la fertilización, se observó una división de 16 células, y a las 144 horas de la fertilización se observó embriones en estadio de mórula. Todas estas observaciones se realizaron con la ayuda de un microscopio.

### ***Análisis estadístico***

Los datos se analizaron utilizando procedimientos de estadística descriptiva como porcentajes y totales para la construcción de cuadros.

Para el porcentaje de maduración, fertilización y división celular se evaluaron sobre el total de ovocitos recuperados, ovocitos madurados y ovocitos fertilizados, respectivamente.

## **Resultados y discusión**

El Cuadro 1 muestra los resultados de la maduración *in vitro* de los ovocitos, donde se obtuvo un porcentaje de maduración del 61.79%, con una desvío estándar de 4.86%.

**Cuadro 1.** Maduración *in vitro*. Tasa de maduración de ovocitos

Estado	Número	%	DS
Ovarios	135	-	
Ovocitos maduros	241	61.79	4.86
Ovocitos no maduros	149	38.21	4.86
<b>Total</b>	<b>390</b>	<b>100</b>	

El porcentaje de maduración ovocitaria por cada repetición se muestra en el Cua-

dro 2. Estos porcentajes son los resultados de la maduración usando líquido folicular.

Rea *et al.* (2001) estudiaron la maduración de ovarios de vacas sacrificadas procedentes del oriente y occidente del país. Utilizando como medio de maduración TCM-199, obtuvieron un porcentaje de maduración de 36% y 24% para vacas del oriente y occidente, respectivamente. Estos resultados son menores a los obtenidos en el presente estudio; esta diferencia se puede atribuir a que se trabajó con líquido folicular.

Los resultados encontrados en el presente trabajo fueron superiores a los encontrados por Suzuki *et al.* (1999) quienes reportaron una tasa de maduración del 58.5%, trabajando también con ovocitos bovinos en una incubadora portátil de CO<sub>2</sub>. En el presente trabajo se utilizó incubadoras portables de CO<sub>2</sub> con la adición de 0,25 g de gránulo efervescente y retirando 25 ml de volumen de oxígeno para crear presión negativa dentro de la incubadora portable, para luego ser sometida a incubación.

Varisanga *et al.* (2002), realizaron estudios sobre la producción de embriones bovinos madurados *in vitro*, utilizando incubadora de CO<sub>2</sub> simple portátil obteniendo una tasa de maduración del 83,3%, utilizando para ello un medio de maduración consistente en; TCM-199 suplementado con 10% SFB, este resul-

tado comparado a los obtenidos en este trabajo son mayores esta diferencia se puede atribuir al medio utilizado y la suplementación, debido a que en esta investigación se trabajó con el líquido folicular añadiendo solo LH.

Gonzales *et al.* (2005), utilizando bolsas gasificadas que contenían en su interior 5% CO<sub>2</sub>, 95% N<sub>2</sub> y 5% O<sub>2</sub>, que fueron sumergidas dentro de un sistema de incubación bajo el agua (baño maría) a 38.5°C, obtuvieron una tasa de maduración del 39.8%. Dichos resultados son inferiores con los del presente estudio donde se obtuvo una tasa de maduración del 61.79%, los equipos utilizados también juegan un papel importante en este tipo de estudios y la manipulación de los medios.

Cainzos (2013), trabajó en una incubadora convencional con medio SOF-Hepes, obteniéndose una tasa de maduración de 79.4%, la cual fue mayor a la encontrada en el presente trabajo. El uso de equipos tecnológicos brinda una mayor posibilidad de obtener resultados alentadores, en esta investigación se usó un dispositivo no convencional (tapper).

Otro estudio realizado por Ccopa (2016), reporta un porcentaje de maduración del 90.92%, suplementando en los medios, fluido uterino de alpaca, este resultado mayor al obtenido en este trabajo, puede deberse a la composición del medio de maduración.

**Cuadro 2.** Porcentaje de maduración ovocitaria por repeticiones

Maduración ovocitaria	Repeticiones						
	1	2	3	4	5	6	7
Maduros (%)	63.6	64.3	68.8	58.0	62.5	60.7	53.6
No maduros (%)	36.4	35.7	31.3	42.0	37.5	39.3	46.4

### Fertilización *in vitro*

En el Cuadro 3, se aprecia los resultados obtenidos de ovocitos fertilizados utilizando el medio de fertilización FERT-TALP el cual muestra una tasa de fertilización del 27,39% con un desvío estándar de 6,78% respecto al promedio.

**Cuadro 3.** Fertilización *in vitro* (en %)

Condición	Número de ovocitos	%	DS
Fertilizados	66	27.4	6.78
No fertilizados	175	72.6	6.78
<b>Total</b>	<b>241</b>	<b>100</b>	

Al respecto Suzuki *et al.* (1999), estudiaron la maduración ovocitaria utilizando una incubadora portátil de CO<sub>2</sub> obteniendo una tasa de fertilización del 20.5% utilizando como medio de fertilización el medio Brackett and Oliphant (BO), estos resultados comparados a los obtenidos son inferiores, esto se debería a que además de la adición de heparina se adicionó al medio de fertilización 2µl de PHE.

Está demostrado que la PHE incrementa significativamente la motilidad espermática, y el porcentaje de ovocitos penetrados, además, esta mezcla disminuye el intervalo de tiempo transcurrido entre la inseminación y la penetración de los ovocitos, debido a que estas sustancias ejercen un efecto sinérgico, la mezcla PHE actúa además, como un antioxidante, protegiendo a los ovocitos y a los espermatozoides de los efectos negativos de la elevada tensión de O<sub>2</sub> presente en el medio de cultivo (Shemesh *et al.* 2000).

González *et al.* (2005), utilizando bolsas gasificadas que fueron introducidos dentro de una incubadora, utilizando como

medios para la fertilización TCM-199 obteniendo una tasa de fertilización del 18.1%, estos resultados comparados a los del presente estudio son inferiores debido al tipo de medio de fertilización utilizado, la adición de 2 µl de PHE y heparina. Mejia *et al.* (2009), utilizaron un dispositivo convencional y evaluaron las tasas de fertilización *in vitro* de ovocitos bovinos con dos medios de maduración diferentes; medio simple de potasio optimizado (KSOMaa) y Charles Rosenkrans 1 (CR1aa). Las tasas de fertilización fueron del 15% y 0%, respectivamente. Haciendo una comparación de estos resultados con los obtenidos en el presente trabajo son inferiores se puede atribuir esta diferencia sobre todo a los medios utilizados y la composición de los mismos.

Urrego *et al.* (2008) realizaron una comparación entre FIV convencional y FIV modificada obteniendo un promedio de 73.1% y 70.8%, respectivamente llegando a concluir que el porcentaje de oocitos fertilizados era similar entre las dos técnicas. Estas diferencias posiblemente se deben a la calidad de ovarios trabajados ya que los autores antes mencionados trabajaron con OPU, mientras que en este estudio fueron ovarios de matadero provenientes de hembras de descarte además de que los autores utilizaron diferentes medios de fertilización. Otro resultado reportado por Ccopa (2016), donde evaluó el efecto del suero sanguíneo de alpaca con diferentes concentraciones (5%, 10%, y 20%) en el medio TCM-199, obtuvo porcentajes de fertilización de 29.77%; 30.44% y 39.05% para cada concentración respectivamente. Estos resultados comparados con los obtenidos en esta investigación son superiores, esto puede ser por la adición del suero sanguíneo de alpaca a los medios de fertilización.

**Evaluación general del desarrollo celular**

El desarrollo celular se evaluó a las 48 h post-inseminación o fertilización para determinar el número de óvulos fertilizados. Se tomaron como tales todos los embriones de dos o más células, independientemente de la apariencia de los blastómeros o de la zona pelúcida. Los resultados se muestran en el Cuadro 4, y se obtuvieron con respecto al número total de ovocitos fertilizados.

**Cuadro 4.** Porcentaje de clivaje

Fase de división celular	Clivaje (%)
2 células	13.64
4 células	10.61
8 células	9.09
16 células	4.55
Mórula	2.27

Para la evaluación posterior a las 48 horas, se tomó en cuenta la apariencia de los blastómeros para considerar el estadio embrionario.

Los resultados obtenidos en este estudio son menores a los reportados por Rea *et al.* (2001). Encontraron valores de división celular, indicador de fertilización de los ovocitos bovinos maduros de vacas del altiplano de La Paz y de los llanos del Beni, después de 48 horas de cultivo, en ambos grupos los ovocitos clivaron al estadio de 2 y 4 células. Los promedios obtenidos fueron de 19.7% para las vacas del Beni y de 16.1% para los animales del Altiplano de la Paz. Estos resultados son mayores a los promedios comparados a los del presente estudio (12.13%), esto puede ser por las condiciones en las que se desarrolló la investigación, el uso de una incubadora no convencional y adap-

tando el baño maría para mantener la temperatura.

Al respecto Ahuja *et al.* (2009). Realizaron experimentos con dos medios de cultivo: un medio convencional para embriones bovinos (KSOM) y un medio de cultivo para producción *in vitro* de embriones humanos (HTF modificado), hallaron una tasa de división en el día tres post-FIV de 82.3% y de 80.1%, respectivamente, para embriones cultivados en los medios mencionados, estos valores son superiores a los encontrados; posiblemente estas diferencias se atribuyan a los medios utilizados y la manipulación de los mismos.

Mejía *et al.* (2009) obtuvieron un porcentaje de blastocistos de 0% y del 15% con el medio KSOMaa y el CR1aa respectivamente. Ahuja *et al.* (2009) evaluaron el desarrollo embrionario a la etapa de blastocito obteniendo un 31.6% para embriones cultivados en el medio KSOM y 29.5% para embriones cultivados en HTF.

Fernández *et al.* (2007) realizaron tres ensayos de fertilización y cultivo de embriones *in vitro* reportando tasas de blastocisto de 0%, 2.6% y 2.1 %, respectivamente, siendo estos valores superiores obtenidos a este estudio. Esto puede deber al uso de medios y a los equipos utilizados, debido a que los equipos del laboratorio usados para esta investigación no fueron los adecuados.

**Evaluación general de muerte celular**

La muerte celular (apoptosis) obtenida en este estudio se detalla en el Cuadro 5. Estos porcentajes fueron obtenidos respecto al número total de ovocitos fertilizados.



**Cuadro 5.** Porcentaje de apoptosis

Tiempo (horas)	Apoptosis (%)
48	86.36
72	89.39
96	90.91
120	95.45
144	97.73

Mejía *et al.* (2009) compararon dos medios de cultivo de embriones: el KSO-Maa y CR1aa obteniendo un porcentaje de apoptosis de 44% y 83%, estos valores son iguales estadísticamente a los obtenidos en este estudio.

## Conclusiones

- El uso de un dispositivo no convencional utilizado como incubadora portátil para la realización de este estudio, se logró obtener resultados positivos en bajos porcentajes, sin embargo esto es un avance para la investigación en nuestro altiplano boliviano, que se encuentra a más de 3600 msnm y se torna una condicionante, los resultados reportados se realizaron a nivel del mar.
- Con el uso de medios no convencionales como el fluido folicular, se puede lograr la maduración de ovocitos obteniendo porcentajes favorables. Los medios de fertilización y cultivo utilizados en este estudio son aptos para realizar este tipo de trabajos.
- Se obtuvo un 61,79% en la maduración de ovocitos utilizando fluido folicular, este valor presenta un alto porcentaje comparado con otras investigaciones.

- El porcentaje de 27.39% obtenido para la fertilización *in vitro* presenta un porcentaje menor en comparación a los resultados reportados por otros autores.
- El porcentaje de clivaje logrado fue del 13.64% (2 células); 10.61% (4 células); 9.09% (8 células), 4.55% (16 células) y 2.27% (mórula). Estos porcentajes son menores a los encontrados en la literatura citada.
- Los porcentajes obtenidos de apoptosis fueron 86.36% (48 h); 89.39% (72 h); 90.91% (96 h); 95.45% (120 h) y 97.73% (144 h), son mayores a los obtenidos por otros autores.

## Referencias citadas

- Ahuja C. Montiel F., Pérez P., Gallegos J. 2009. Medios alternativos para la producción *in vitro* de embriones bovinos. *Zootecnia Tropical* 27(3): 277-284.
- Cainzos J. 2013. Diseño de un medio definido para la maduración *in vitro* de ovocitos bovinos en baja tensión de oxígeno. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, España.
- Céspedes. 2013. Efecto del fluido folicular y fluido oviductual en la maduración y fertilización *in vitro* de ovocitos de vacuno. Tesis de grado. Puno, Perú. 109 p.
- Ccopa C. 2016. Efecto del fluido uterino de alpaca en fase folicular sobre la maduración y fertilización *in vitro* de ovocitos bovinos. Tesis de grado. Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Puno, Perú. 101 p.

- De Loos F., Maurik P., van Beneden T., Kruijff T. 1992. Structural aspects of bovine oocyte maturation *in vitro*. Mol. Reprod. Devel. Vol. 31. pp. 208-214.
- Del Campo M. 1993. Fertilización *in vitro*. Instituto de Reproducción Animal Córdoba, Argentina. Vol. 1. pp. 1-20.
- Fernández A., Díaz T., Muñoz, G. 2007. Producción *in vitro* de embriones bovinos. Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias. 48 (1): 51-60.
- Fukui Y. 1990. Effect of follicle cell on the acrosome reaction, fertilization, and developmental competence of bovine oocytes matured *in vitro*. Mol. Rep. Dev. Vol. 26. pp. 40-46.
- Gardon C., Tartaglione M. 1995. Producción y valoración de anticuerpos anti H-Y. Secretaría de Ciencia y Técnica, FCA – UNLZ. Buenos Aires. Vol. 1. pp. 1-15.
- Gardon J. 1999. Utilización de antisuero H-Y para sexar embriones bovinos en diferentes estadios del desarrollo embrionario, obtenidos por fertilización *in vitro*. Tesis Doctoral Córdoba, Argentina. *En línea*. Disponible en: [helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/407](http://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/407) Consultado en octubre de 2015.
- Gordon. 2003. Efecto del fluido folicular y fluido oviductal en la maduración y fertilización *in vitro* de ovarios de vacuno. Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú.
- Gonzales N., Huerta L., Gallegos M., de la Hoya E., Espinosa Y., Josa A. 2005. Sistema de incubación en bolsas gaseadas: Alternativa al cultivo *in vitro* de embriones bovinos. Laboratorio de Biotecnología. Área de Obstetricia y Reproducción. Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria. Miguel Servet. Zaragoza, España.
- Leibfried L., First N. 1979. Characterization of bovine follicular oocytes and their ability to mature *in vitro*. J. Reprod. Fert. Vol. 48. pp. 76-86.
- Makarevich A., Markkula M. 2002. Apoptosis and proliferation potential of bovine embryos stimulated with insulin-like growth factor during *in vitro* maturation and culture. Biol. Reprod. 62: 437-449.
- Mejía V., Arango S., Pareja A., Camargo O., Urrego R. 2009. Evaluación de dos medios de cultivos sobre la producción *in vitro* de embriones bovino. Revista CES de Medicina Veterinaria Zootecnia 4(2): 39-46.
- Rea M., Cortez J., Olivares J., Cubillo P. 2001. Obtención de embriones por maduración y fertilización *in vitro* de oocitos bovinos. Instituto de Genética. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia. pp. 8.
- Shemesh M., Gurevich M., Harel-Markowitz E., Benvenisti L., Shore S., Stram Y. 2000. Gene integration into bovine sperm genome and its expression in transgenic off spring. Mol. Reprod. Dev. 56: 306-308.
- Suzuki T., Sumantri C., Khan N., Murakami M., Saha S. 1999. Development of a simple, portable carbon dioxide incubator for *in vitro* production of bovine embryos. Anim. Reprod. Sci. 53: 149-157.
- Urrego R., Tarazona A., Olivera M., Camargo O. 2008. Simplificación de la fertilización de ovocitos durante la producción *in vitro* de embriones bovinos. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 21: 398-405.
- Varisanga M., Dong Y., Mtango N., Suzuki T. 2002. Comparison of the effects of u-sing standard and simple portable SO<sub>2</sub> incubator on the *in vitro* developmental competence of bovine embryos reconstituted by somatic cell nuclear transfer. Theriogenology. 38 (2002): 77 - 86.
- Viana J., Camargo L. 2007. Bovine embryo production in Brazil: A new scenario. Acta Sci. Vet. 35 (3): 915-924.

## Evaluación de componentes de células sanguíneas del plasma seminal eyaculado a nivel intrauterino colectadas mediante aspiración poscoital en llamas

Marino Magdalena; Paxipati Rolando; Loza Manuel

Universidad Católica Boliviana San Pablo;  
Unidades Académicas Campesinas de Tiahuanaco y Carmen Pampa

*E-mail de contacto:* [marinomagdalenaucb@gmail.com](mailto:marinomagdalenaucb@gmail.com)

**Resumen.** Los intentos de criopreservar semen en camélidos sudamericanos, han sido hasta la fecha insatisfactorios. Por una parte se carece de información acerca de los componentes de células sanguíneas del semen eyaculado; por otra parte, su alta viscosidad impide el aprovechamiento de material genético. El objetivo del estudio fue evaluar los componentes de células sanguíneas del plasma seminal eyaculado, a nivel intrauterino, en llamas de dos edades. Para ello, se seleccionó 6 llamas machos de 3 y 4 años de edad. La colección de semen fue realizada por aspiración poscoital, con el proctoscopio de uso humano, depositado en un tubo falcón de 14 ml después de la cópula. El semen se centrifugó a 2800 rpm/15 minutos. Para el análisis de células sanguíneas se usaron electrolitos SOTON y BAFES y en un analizador hematológico automático. Los leucocitos y eritrocitos presentaron menor concentración entre edades, mientras la concentración de plaquetas ( $5.5 \times 10^3/\mu\text{l}$ ), presentó mayor concentración en la comparación por edad. Los resultados permiten reducir la viscosidad del semen y obtener semen de buena calidad para el uso de programas de mejoramiento genético e inseminación artificial con semen fresco.

**Palabras clave:** Criopreservación; Calidad seminal; Camélidos sudamericanos

### Introducción

Las familias productoras de camélidos sudamericanos que se encuentran en la parte alto andina de Bolivia, muestran una carencia de ingresos económicos generados por sus actividades agropecuarias, viéndose obligadas a emigrar por diversos factores (bajo rendimiento de carcasa, bajos porcentajes de natalidad), debido a escasa infraestructura productiva y los insuficientes servicios de asistencia técnica.

Esto se debe al lento progreso del mejoramiento genético de llamas y alpacas por no contar con biotecnologías como herramienta del progreso genético.

En la actualidad, los diferentes métodos de criopreservación seminal en camélidos sudamericanos que se han desarrollado en llamas y alpacas, tienen como objetivo primordial mantener la capacidad fecundante de los espermatozoides.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar los componentes de células sanguíneas de plasma seminal, eyaculado a nivel intrauterino, colectado mediante aspiración poscoital en llamas de dos edades. Por lo tanto se pretende estudiar los componentes de células sanguíneas presentes en el plasma seminal, que lo hacen tan especial sin la presencia de viscosidad en el semen eyaculado y obtener semen de buena calidad por la técnica

de colección de semen por aspiración poscoital, para de esta manera, pueda ser aprovechado el material genético para el uso en la inseminación artificial con semen fresco y programas de mejoramiento genético en llamas.

## Materiales y métodos

El trabajo de campo se realizó en predios de la Carrera de Ingeniería Zootécnica de la Unidad Académica Campesina de Tiahuanacu (Universidad Católica Boliviana “San Pablo”), encuentra ubicado en el municipio de Tiahuanacu de la provincia Ingavi del departamento de La Paz, a 74 km de la ciudad de La Paz sobre la carretera internacional La Paz a Desaguadero, en las coordenadas 17°35’ a 18°17’ de latitud Sur y 68°20’ a 69°08’ de longitud Oeste, a una altitud de 3854 msnm (PDM Tiahuanacu, 2011).

Se trabajó en el laboratorio de bioquímica “La Paz Ltda.”, ubicado en la ciudad de La Paz y dependiente del Instituto Geográfico Militar.

Se utilizaron 6 llamas machos de 3 y 4 años de edad, de la raza *Q’ara*. La colecta de semen se realizó con la técnica de aspiración poscoital, siguiendo los protocolos descritos por Bravo (2014). Esta técnica consiste en aspirar parte del semen que el macho eyacula y que deja en la cavidad cervical y uterina de la hembra.

Las muestras de semen fresco fueron pesadas en una balanza. Luego se centrifugó a 2800 rpm por 15 minutos, en una centrifugadora automática para la separación del plasma seminal. El sobrenadante obtenido fue evaluado para determinar la ausencia de espermatozoides. Se obtuvo un aproximado de entre 1 ml a 2 ml de plasma seminal, para su posterior análisis bioquímico de células sanguíneas.

Mediante un contador hematológico del plasma seminal de llamas, se determinaron los niveles de concentración de células sanguíneas (eritrocitos, leucocitos, plaquetas) para lo cual se usaron los electrolitos SOTON y BAFES, específicos para cada determinación y por medio de un analizador hematológico automático.

Para evaluar los resultados para la concentración de componentes de células sanguíneas, se utilizó un análisis descriptivo de promedios.

## Resultados y discusión

Los resultados, a nivel de laboratorio, se presentan en el Cuadro 1, donde se observa la comparación de células sanguíneas de 3 y 4 años de edad, encontradas en plasma seminal de llamas, eyaculado a nivel intrauterino.

**Cuadro 1.** Comparación de células sanguíneas del plasma seminal, eyaculado a nivel intrauterino, en llamas de dos edades (en  $\mu$ l)

Células sanguíneas	Edad 3 años	Edad 4 años	Promedio
Leucocitos * $10^3/\mu$ l	0.1	0.0	0.1
Eritrocitos * $10^6/\mu$ l	0.01	0.04	0.03
Plaquetas * $10^3/\mu$ l	5 b	6 a	5.5 ab

Los resultados obtenidos en la presente investigación, sobre la concentración de células sanguíneas por edad, presentaron un promedio general de leucocitos de  $0.1 * 10^3/\mu\text{l}$ , eritrocitos de  $0.03 * 10^6/\mu\text{l}$ , por lo cual se puede observar que estos dos componentes presentan una menor concentración en animales de 3 y 4 años de edad.

Para la concentración de plaquetas de  $5.5 * 10^3/\mu\text{l}$ , se observa una mayor concentración en animales de 3 y 4 años de edad.

No existen datos sobre la concentración de células sanguíneas para comparación, con respecto a algún estudio realizado en llamas ni otras especies, por tanto los valores encontrados, podrían considerarse como promedios de concentración normal en llamas.

## Conclusiones

- La concentración de células sanguíneas: leucocitos ( $0.1 * 10^3/\mu\text{l}$ ) y eritrocitos ( $0.03 * 10^6/\mu\text{l}$ ), presentaron una menor concentración en animales de 3 y 4 años de edad.
- Las plaquetas presentaron mayor concentración de ( $5.5 * 10^3/\mu\text{l}$ ), en la comparación de células sanguíneas presentes en el plasma seminal en animales de 3 y 4 años de edad.
- La investigación permite reducir la viscosidad del semen y obtener semen de buena calidad para el uso de programas de inseminación artificial con semen fresco.

## Referencias citadas

- Bravo, W. 2014. Collection of semen and artificial insemination of alpacas. *Therionology*. 47: 619-626.

# Viabilidad de embriones de ganado bovino, producidos *in vitro*, en respuesta a la congelación y vitrificación en condiciones de altura

<sup>1</sup> Susaño Reynaldo; <sup>2</sup> Ayala Celso

<sup>1</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,  
Universidad Nacional del Altiplano (Puno, Perú);

<sup>2</sup> Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés (La Paz, Bolivia)

E-mail de contacto: reypc123@gmail.com

**Resumen.** El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la viabilidad post-criopreservación de embriones de bovinos producidos *in vitro*. Esta investigación se realizó en el laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano Puno (Perú). Se evaluó dos protocolos de crio conservación de embriones producidas *in vitro*. Se utilizaron 30 embriones de bovinos para congelación convencional y 30 embriones para vitrificación. Los embriones en estado de Mórula compacta (Moc) Blastocito (B) y Blastocito expandido (Bx) fueron obtenidos 7-8 días después de la fertilización *in vitro* (FIV). Los resultados obtenidos para la congelación convencional fue de 56.67% de embriones entre clasificaciones 1 y 2, considerados como embriones viables de acuerdo a su clasificación morfológica y un 43.33% de embriones con clasificación 3, 4, 5 y embriones perdidos, siendo considerados como embriones no viables. Estos resultados, al ser sometidos a la prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ), mostraron una diferencia significativa entre embriones viables y no viables ( $p \leq 0.05$ ). Mientras que los resultados obtenidos para la vitrificación fueron de 60% de embriones entre clasificaciones 1 y 2 (embriones viables de acuerdo a su clasificación morfológica) y un 40% de embriones con clasificación 3, 4, 5 y embriones perdidos (embriones no viables). Estos resultados al ser sometidos a la prueba de  $\chi^2$ , mostraron diferencias entre embriones viables y no viables ( $p > 0.05$ ). Todo esto indica que los embriones de bovinos pueden ser conservados a largos periodos de tiempo por los métodos de congelación.

**Palabras clave:** Reproducción asistida; Criopreservación; Transferencia embrionaria

## Introducción

Con el desarrollo de biotecnologías en la reproducción, entre las cuales destacan la superovulación, la fecundación *in vitro* y micro manipulación de embriones, se ha dado un gran avance en cuanto al número de embriones que se puede obtener de una sola vaca de alto valor genético.

Debido a estos avances, surgió la necesidad de encontrar técnicas que permitieran

preservar estos embriones por un tiempo más largo que el que se acostumbra en programas de transferencia inmediata. La alternativa más estudiada y aplicada en este sentido es la criopreservación de los mismos, la cual ha permitido que material biológico de diversas especies animales sea almacenado indefinidamente, sin pérdida funcional de la actividad y las funciones genéticas (Mazur 1980). La criopreservación es una técnica que permite eliminar la dependencia de la activi-

dad reproductiva cíclica de los animales, permitiendo reducir los costos derivados de la aplicación de la técnica y limitando la deriva genética. Además elimina patologías que normalmente se asocian al mantenimiento de animales vivos y hace posible la conservación de razas o especies en riesgo de extinción mediante la creación de bancos de embriones congelados (Diez *et al.* 2001). Por todo ello, la criopreservación es un complemento de la fecundación *in vitro* ya que permite mantener bancos de embriones con fines de investigación, de preservación o comerciales.

Sin embargo, la criopreservación de los embriones producidos *in vitro* (PIV), por medio de los métodos convencionales de congelamiento, no ha alcanzado tasas de supervivencia satisfactorias (Vajta 2000), debido a sus características físicas, lo que ha llevado a la utilización de otros métodos como es el de vitrificación. Este método, con curvas de enfriamiento superiores a las del congelamiento, permite la reducción del tiempo de exposición del embrión en los puntos críticos de temperatura, disminuyendo así los daños térmicos y mecánicos causados durante la formación de hielo y aumentando la viabilidad de los embriones posterior a su vitrificación. No obstante, es importante resaltar que a pesar del alcance conseguido con estas técnicas hasta hoy, aún es necesario el desarrollo de nuevos métodos y las nuevas perspectivas que optimicen la vitrificación de embriones PIV, para así, tal vez en un futuro no muy lejano, alcanzar la comercialización de este tipo de embriones, de la misma forma que han alcanzado hasta hoy los embriones producidos *in vivo*. La criopreservación (CPE) en ganadería puede lograrse por procedimientos de congelación estándar (curva lenta) y por vitrificación (Vajta *et al.* 1997).

Estas técnicas son utilizadas como complemento en la reproducción asistida. En el año 2009, el 56.7% de los embriones bovinos (producidos *in vivo* e *in vitro*) transferidos, fueron embriones criopreservados.

Debido a la importancia que ha tenido la CPE a través del tiempo, se han realizado diversos estudios para saber con qué protocolo de criopreservación se tiene el mayor porcentaje de sobrevivencia embrionaria post descongelación (Cabodevilla y Teruel, 2001).

Los vacunos criollos, en todos los hatos, están en una fase de desaparición por el cruce con otras razas, con la finalidad de producción de leche o carne, que a la vez también tiene su parte ventajosa, que debido al mejoramiento genético se ha optimizado la producción y a la vez sirve de fuente de ingreso en los pequeños productores de leche. Pero el problema latente es que los genes del ganado criollo están en camino a la desaparición y que los más de 500 años de adaptación serían insulsos; el ganado criollo es el que resiste a todos los factores adversos del ambiente como son la altura, clima seco, etc. La población de vacunos en Bolivia es de 80% y lleva sangre de los animales de otras razas, existiendo un problema de mestización del ganado vacuno, provocando la pérdida de su rusticidad, sobriedad y eficiencia reproductiva. En este sentido, aplicando con dominio la técnica de producción de embriones *in vitro* y la criopreservación, se garantizaría la no desaparición de este ganado criollo.

Por ello, con el presente trabajo de investigación se proyecta realizar la colección de ovocitos que permita aprovechar y recuperar los folículos no ovulatorios, que bajo condiciones fisiológicas se vol-

verían atrésicos (Gordon, 1994). Asimismo, maximizar el número total de ovocitos y que estos sean de buena calidad (citoplasma homogéneo y varias capas compactas de células del cúmulus) colectados de ovarios; además es una excelente fuente de material para la maduración, fecundación y cultivo *in vitro* (Diez *et al.* 2001). También se pretende implementar protocolos de criopreservación de embriones producidos *in vitro*, en estado de blastocito y someterlos al proceso de criopreservación, utilizando los protocolos de congelación convencional y vitrificación, para su almacenamiento y se pueda tener un banco de germoplasma, de tal manera de lograr que una parte de los embriones criopreservados se destinen a la transferencia de embriones a vacas receptoras.

## Materiales y métodos

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano, ubicado en la ciudad de Puno (Perú), a una altitud de 3848 msnm, en latitud Sur de 15°50' y longitud Oeste de 70°01'.

Se utilizaron embriones en estado de blastocito, producidos *in vitro*, los cuales fueron distribuidos de la siguiente forma:

Tratamiento 1:	Tratamiento 2:
Congelación convencional (n = 30)	Vitrificación (n = 30)

<p><b>Factores de inclusión:</b> Se utilizaron embriones en el estado de blastocito de categoría 1 y 2</p>
<p><b>Factores de exclusión:</b> No se utilizaron embriones en estado de blastocito de categoría 3, 4 y 5.</p>

**Congelación convencional de embriones.** Para la congelación convencional se utilizaron embriones producidos *in vitro* en estado de blastocito inicial, blastocito y blastocito expandido, de grados 1 y 2. La congelación se realizó de acuerdo al protocolo descrito por Voelkel y Hu (1992). Los embriones seleccionados y recuperados, fueron colocados previo a su congelación, en PBS modificado, conteniendo 1 g/l de glucosa, 0.036 g/l de piruvato de sodio y suplementado con el 10% de suero fetal, por 2 a 4 horas antes de su congelación. Todos los medios fueron suplementados con 10 ul/ml de una suspensión de antibióticos y antimicrobicos. La solución de congelación fue preparada con 1.5 M de etilenglicol en PBS modificado conteniendo 4 g/l de BSA fracción V. Los embriones fueron expuestos por 20 minutos en solución de congelación, fueron cargados dentro de pajillas de 0.25 ml secuencialmente, de la siguiente forma:

- ⇒ Columna de medio de mantenimiento (PBS modificado).
- ⇒ Columna de aire.
- ⇒ Solución de congelación conteniendo 2 a 4 embriones.
- ⇒ Columna de aire.
- ⇒ Columna de medio de mantenimiento.

El fin o el extremo o abierto de la pajilla se selló con polivinilo de cloruro. Las pajillas fueron trasferidas a una maquina manual (congeladora) enfriada a -7°C, por 2 minutos, luego se indujo el seeding (siembra de cristales de hielo), posteriormente se mantuvo por 5 minutos más, para extender la formación de los cristales de hielo. Para la congelación se comenzó a bajar 0,5°C/minuto hasta 35°C bajo cero, seguidamente fue mantenido por 15 minutos antes de introducir las pajillas dentro el nitrógeno líquido y almacenarlas hasta su uso.



La descongelación se realizó sacando la pajilla del tanque, se expuso por 10 segundos al aire a temperatura ambiente, inmediatamente se pasó a baño María a 30°C por 10 segundos. En todo momento la pajilla se mantuvo en posición horizontal. Después de la descongelación se cortaron las pajillas en ambos extremos y los embriones fueron vaciados dentro de una placa Petri que contenía una solución de medio de mantenimiento (PBS modificado), por espacio de 10 minutos para su rehidratación, seguidamente fueron evaluadas morfológicamente. Finalmente se transfirieron al medio de cultivo SO-Faa por 48 horas más y se evaluó su desarrollo a los siguientes estadios.

**Vitrificación.** El protocolo que se utilizó para el proceso de vitrificación se basó en trabajos de Vajta *et al.* (1996), con ciertas modificaciones. Así, los embriones en estado de blastocito fueron seleccionados y equilibrados en el medio de cultivo (TCM-199), suplementado con el 20% de suero fetal bovino, por 5 minutos. Para la vitrificación, dos embriones por grupo fueron incubados por 3 minutos para el inicio de la fase de equilibrio y deshidratación en una solución de 10% de etilenglicol (EG) y 10% de dimethyl sulfoxide (DMSO), disuelto en TCM 199 + 20% de suero fetal a 36°C. Como siguiente paso, los embriones se transfirieron en gotas de 1 a 2  $\mu$ l dentro de 20  $\mu$ l de una solución que contenía 20% de EG + 20% de DMSO dentro TCM 199 + 20% de suero fetal + 0.5 M de sucrosa, donde los embriones fueron mezclados rápidamente por pipeteo.

Inmediatamente los embriones fueron sacados en gotas de 1 a 2  $\mu$ l dentro un tip de un micro dispensador de capacidad de 10  $\mu$ l y seguidamente el tip cargado con los embriones se sumergieron en nitrógeno líquido, este procedimiento no ex-

cedió los 25 segundos y finalmente el tip se desprendió del micro dispensador y se dejó el tip con los embriones congelados hasta su uso.

La descongelación se realizó sumergiendo la punta del tip que contenía los embriones, dentro 1,2 ml del medio de mantenimiento a 37°C (TCM-199 suplementado con el 20% de suero fetal) que contenía 0.5 M de sucrosa por 1 minuto, luego los embriones se transfirieron a otros 1.2 ml de mantenimiento que contenía 0.15 M de sucrosa por 5 minutos y finalmente los embriones se transfirieron al medio de mantenimiento en dos oportunidades, cada una por 5 minutos. Los embriones fueron evaluados morfológicamente a 100X. Finalmente fueron transferidos al medio de cultivo SOFaa por 48 horas y se evaluó su desarrollo en los siguientes estadios.

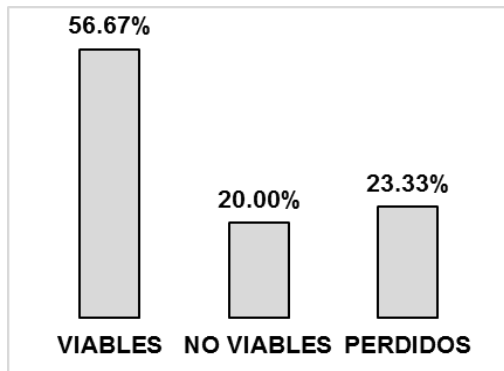
**Análisis estadístico.** La sobrevivencia del embrión al proceso de congelación/descongelación y el desarrollo del mismo en la receptora, se evaluaron a través de la prueba de Chi cuadrado ( $\chi^2$ ). Se compararon los porcentajes de sobrevivencia a la descongelación y al cultivo de 24 y 48 horas.

## Resultados y discusión

**Viabilidad *in vitro* de embriones de bovinos sometidos a la congelación convencional.** El Cuadro 1 y la Figura 1, muestran los resultados de embriones congelados-descongelados, donde los embriones viables son superiores significativamente (56.67%) frente a los embriones no viables (43.33%), cuando fueron sometidos a la prueba de  $\chi^2$  ( $P \leq 0.05$ ).

**Cuadro 1.** Clasificación de embriones congelados-descongelados convencionalmente (en %)

Clasificación	Embriones congelados		Embriones descongelados		Total (en %)
	n	%	n	%	
1	19	63.33	10	33.33	56.67
2	11	36.67	7	23.33	
3	0	0.00	0	0.00	43.33
4	0	0.00	3	10.00	
5	0	0.00	3	10.00	
Perdidos	0	0.00	7	23.33	
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>100.00</b>	<b>30</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>



**Figura 1.** Clasificación de embriones congelados-descongelados por vitrificación (%)

En el presente estudio se logró un 26.67% (8/30), de embriones sin ningún daño morfológico entre sus estructuras, considerándolos como embriones de clase 1 y un 33.33% (10/30), de embriones con una mínima alteración en sus estructuras, catalogándolos como embriones de clase 2. En suma de las dos clases se logró un 60.00% (18/30), de embriones morfológicamente viables.

Los resultados encontrados en este estudio son inferiores frente a los de otros autores, esto se debería a que no se cumplió eficazmente el protocolo utilizado durante el proceso de vitrificación, ya que había que pasar de un medio de me-

nor concentración de crioprotectores a otro con mayor concentración de crioprotectores, en especial en el último medio de vitrificación, ya que en éste las concentraciones eran muy altas y tenían que permanecer solo por 30 segundos, sin embargo esto no se cumplió ya que al momento de cargar los embriones a la pajilla, estas permanecían mayor tiempo en el medio de vitrificación, provocando un efecto osmótico negativo, primero por pérdida de agua y luego por incremento de agua, dañando algunas estructuras internas.

Comparando los resultados de las clases 1 y 2 del presente trabajo, los valores son inferiores a los obtenidos por Bejar y Gatus (2002), quienes reportan 81.2% (345/425) de embriones normales de acuerdo a su morfología. Estos autores utilizaron un protocolo en el cual los embriones fueron sometidos en una primera solución al 10% de glicerol, por 5 minutos, luego en una segunda solución del 10% de glicerol y 20% de etilenglicol por 5 minutos y por último a una solución del 25% de glicerol y 25% de etilenglicol por 30 segundos, siendo similar al protocolo utilizado en el presente trabajo donde una diferencia fue mantener la pajilla por 2 minutos en los vapores del

nitrógeno líquido y luego sumergirlas a este nitrógeno líquido; otra diferencia fue que los autores citados utilizaron la galactosa en los extremos de la pajilla, y en el presente trabajo se utilizó sucrosa.

Esta diferencia de resultados se debería a que en el presente protocolo de vitrificación, las pajillas fueron sumergidas en el nitrógeno líquido abruptamente, causando mayor incidencia de fracturas a nivel de la zona pelúcida, las pajillas fueron enfriadas previamente en los vapores de nitrógeno líquido por 2 minutos, disminuyendo la cantidad de fracturas en la zona pelúcida de los embriones (Dorland *et al.* 1995).

Melendres (2012), vitrificando embriones, logró un 88.36% y 79.4% de embriones que fueron clasificados por criterios morfológicos, donde solo se consideraron a los embriones sin anomalías en la zona pelúcida, blastómeros y capa de mucina, siendo catalogados como embriones normales (clase 1 y 2), estos autores utilizaron un protocolo donde primero los embriones fueron sometidos a una solución del 12.5% de DMSO y 12.5% de etilenglicol por un periodo de 2 minutos a 20°C; por otra parte los embriones fueron sometidos en una solución del 20% de DMSO y 20% de etilenglicol por un periodo de 1 minuto a 20°C, logrando resultados superiores al resultado que se obtuvo en el presente estudio con un 55% de embriones normales (clase 1 y 2). Los autores aseveran que la eficacia de su protocolo fue condicionada por los procesos de vitrificación y desvitrificación, que tienen efectos tóxicos de los crioprotectores y también a causa de un aumento o disminución excesiva del volumen celular por el efecto osmótico (Liebermann *et al.* 2002).

En el presente estudio se encontró un 3.33% (1/30) de embriones con clasificación 3, 6.67% (2/30) de embriones con clasificación 4 y 13.33% (4/30) de embriones con clasificación 5, que en suma hacen un 23.33% (7/30) de embriones que fueron considerados como no viables; estos resultados son producidos en el momento de pasar los embriones de un medio de vitrificación a otro medio, en el cual los embriones debían de permanecer por solo 30 segundos, sin embargo, en el momento de cargar los embriones a las pajillas, estas permanecieron por más tiempo en este medio, produciendo algunos cambios físicos o bioquímicos que causan lesiones a nivel celular.

#### **Porcentajes de blastocitos re-expandidos y cultivados post congelación convencional y vitrificación.**

Todos los embriones producidos *in vitro* para criopreservación, se seleccionaron el día 7 de cultivo y en estado de blastocito, de categorías 1 y 2. Los embriones fueron sometidos a dos protocolos de criopreservación, a congelación convencional o lenta y vitrificación; los resultados se observan en el Cuadro 2. Para la prueba de  $\chi^2$ , la re-expansión a la post descongelación, con cultivo de 24 y 48 horas, no difirieron (P:0.05) en cuanto a la congelación convencional y vitrificación, pero en cuanto al estado y calidad en los embriones, se observaron diferencias morfológicas al momento de la re-expansión, con 24 y 48 horas de cultivo.

Los resultados de re-expansión a la descongelación de los blastocitos sometidos al método de congelación lenta (Figura 2), fue del 82.35% (14/17), en la re-expansión al cultivo de 24 horas mantuvieron el 58.82% (10/17) y a las 48 horas, lograron sobrevivir el 23.52% (4/17). Se determinó en su morfología la integridad de la zona pelúcida, presencia de

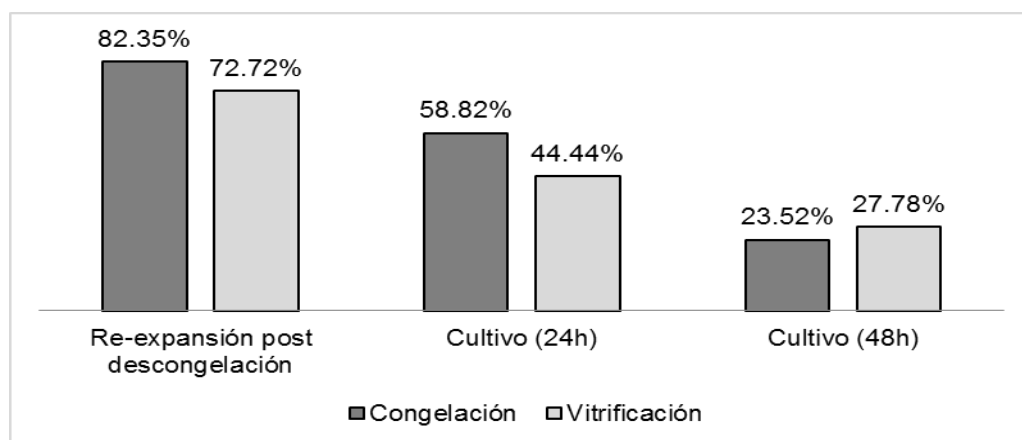
disco embrionario y células integras, presencia completa las células trofoblásticas y el blastocele con presencia de algunas células grandes redondeadas. En los blastocitos que no se re-expandieron, se observó una contracción de la masa celular, deformación y la coloración de todo el contenido que se tornaba de color negro, indicativo del proceso de degeneración por muerte celular del blastocito.

Estudios aplicando el mismo método de congelación y cultivo a la post descongelación, en embriones producidos *in vitro*, reportan la sobrevivencia del 48% a las 6 horas post descongelación, 40% y 31% a las 24 y 48 horas, respectivamente (Se-

rano *et al.* 2002), cultivados en una combinación de los medios de SOF y KSOM mas suero, donde los primeros días tuvieron efecto el suero y BSA, en el desarrollo de los embriones. La viabilidad de los embriones congelados por método convencional, se evaluó al post cultivo, la re-expansión a las 24 y 48 horas con 39% y 35% de viabilidad, respectivamente. La evaluación se realizó observando la morfología como criterio, bajo el microscopio electrónico, determinando que el componente que más se deteriora durante el proceso de la congelación es la zona pelúcida.

**Cuadro 2.** Número de blastocitos re-expandidos y cultivados post congelación convencional y vitrificación

Clasificación	Embriones congelados		Embriones descongelados		Total (en %)
	n	%	n	%	
1	27	90.00	8	26.67	60.00
2	3	10.00	10	33.33	
3	0	0.00	1	3.33	40.00
4	0	0.00	2	6.67	
5	0	0.00	4	13.33	
Perdidos	0	0.00	5	16.67	
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>100.00</b>	<b>30</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>



**Figura 2.** Porcentajes de blastocitos re-expandidos y cultivados post congelación convencional y vitrificación

A descongelación, reportaron el 73% de re-expansión y utilizando peptonas + BSA en su cultivo, lograron el 86% y 80% de sobrevivencia a las 24 y 48 horas, respectivamente (Liebeman *et al.*, 2002). Los resultados desconcertantes del estudio podrían estar relacionados con una interacción entre SH (hialuronato de sodio) y las proteínas (BSA o peptonas), añadidas en el medio, debido al aumento de la viscosidad del medio de congelación por la presencia de SH.

Vajta (2000) realizó una variación en congelación lenta de las pajillas conteniendo los embriones + crioprotector, equilibrados a 25°C, la temperatura la descendieron 1°C/min hasta -7°C, reportando sobrevivencia de 75.8% a la descongelación, 46.9% a las 24 horas y 24.7% a 72 horas post cultivo. Con la utilización de dispositivos automáticos como el VitriPlug, para congelación lenta de embriones en estado de blastocito, se reportaron resultados de 79.4% y 61.1%, respectivamente, para la re-expansión embrionaria entre las 24 y 48 horas en un medio de cultivo SOFaa (*Fluido Oviductal Sintético*) (Stinshoff *et al.*, 2011).

Otros autores también reportaron la sobrevivencia, tras el cultivo de los embriones descongelados, la re-expansión a las 2 h 94.1%, la sobrevivencia a las 24 h 92.6% y 48 h 32.5% (Cabodevila y Teruel 2001).

Los resultados de re-expansión de los embriones sometidos a la vitrificación entre los promedios que fueron obtenidas a la descongelación 72.72% (13/18), a las 24 horas post cultivo 44.44% (8/18) y a las 48 horas 27.78 % (5/18).

Contrastando estos datos con reportes de literatura, se evidencia variaciones por aplicación de protocolos que aplica cada

laboratorio. Así, Vajta *et al.* (1997), reportan el 81% de re-expansión de los blastocitos 24 horas después de la descongelación y cultivo. Reportes de re-expansión a las 6 horas pos descongelación indican 71% y sobrevivencia de 64% y 60% a las 24 y 48 horas de cultivo, en una combinación de medios de SOF y KSOM o separadamente en cada medio, evaluando por criterios morfológicos, con ayuda de un microscopio electrónico. Blastocitos de vacunos vitrificados con adición de ficoll, reportaron la viabilidad a la post descongelación de 27% y 14%, cultivados por 24 y 48 horas, respectivamente (Diez 2003).

## Conclusiones

- La criopreservación de embriones bovinos permite conservar fuentes genéticas para su posterior utilización en programas de mejoramiento genético. En la actualidad, la congelación convencional constituye la única metodología utilizable en programas de criopreservación de rutina, principalmente en aquellos que involucran la conservación de embriones producidos *in vitro* así también *in vivo*.
- Aplicando el protocolo de congelación convencional en embriones de bovinos, se obtuvo un 56.67% de embriones entre clasificaciones 1 y 2 (embriones viables de acuerdo a su clasificación morfológica) y un 43.33% de embriones con clasificación 3, 4, 5 y embriones perdidos (embriones no viables), habiendo una diferencia estadísticamente significativas entre los embriones viables frente a los embriones no viables ( $p \leq 0.05$ ).

- Aplicando el protocolo de vitrificación en embriones de bovinos, se obtuvo un 60.00% de embriones entre clasificaciones 1 y 2 (embriones viables de acuerdo a su clasificación morfológica) y un 40.00% de embriones con clasificación 3, 4, 5 y embriones perdidos (embriones no viables). Estadísticamente existieron diferencias entre embriones viables y embriones no viables ( $p > 0.05$ ).
- Dentro de las técnicas de criopreservación de embriones de bovinos, la vitrificación (60.00%) ha mostrado adaptarse de un modo muy promisorio, teniendo en cuenta los resultados respecto a los métodos de congelación convencional o lenta (56.67%), ya que el tiempo de congelación es mínimo lo cual es muy importante ya que a menor tiempo de congelación, mayor sobrevivencia de embriones.

## Referencias citadas

- Cabodevila J., Teruel M. 2001. Criopreservación de embriones bovinos en Biotecnología de la reproducción. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Balcarce Argentina. 10: 49-174.
- Diez C. 2003. Congelación de embriones producidos *in vitro*. Centro de Selección y Reproducción Animal. Asturias, España. *En línea*. Disponible en: [www.produccion\\_animal.com](http://www.produccion_animal.com) Consultado en mayo de 2018
- Diez C., le Bourhis D., Heyman Y., Degrolard J., Guyader-Joly C., Renard J. 2001. Effect of partial tupid removal from bovine zygotes on further survival and freezing tolerance of *in vitro*-produced blastocysts. *Theriogenology* 55 (4) 923-936.
- Dorland M., Gardner D., Trounson A. 1995. Serum in synthebc oviduct fluid causes mitochondrial degeneraton in ovine embryos. *J. Reprod. Fert. Abstr. Ser* 13 70.
- Gordon I. 1994. Storage and cryopieservation of oocytes and embryos in laboratory production of cattle embryos (I. Gordon, ed.) Cab International Cambridge UK. 6: 293 328.
- Liebermann L., Nawroth F., Isachenko V., Isachenko E., Rahimi G., Tucker M. 2002. Potential importance of vitrification in reproductive medicine. *Biology of Reproduction*. 67: 1671 1680.
- Mazur P. 1980. Fundamental aspects of the freezing of cells with emphasis on mammalian ova and embryos. IX International Congress of Animal Reproduction & A I. 16-20 June. Madrid, Spain. 99-114.
- Melendres M. 2012. Método de congelación de embriones bovinos en nitrógeno líquido. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias Pecuarias. Memoria técnica. pp. 2-54.
- Serrano N., Sierra R., Sánchez J., Restrepo L., Olivera A. 2002. Evaluación de dos métodos de criopreservación sobre la calidad de embriones producidos *in vitro*. *Revista Ciencia Pecuaria*. 15(3): 286-292.
- Vajta G. 2000. Vitrification of bovine oocytes and embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 60: 357 364.
- Vajta G., Holm P., Greve T., Callesen H. 1996. Factors affecting survival rates of *in vitro* produced embryos after vitrification and direct in straw rehydration. *Anim. Reprod.* 45: 191-200.
- Vajta G., Hyttel P., Callesen H. 1997. Morphological changes of *in vitro* produced bovine blastocysts after vitrification in straw direct rehydration and culture. *Mol. Reprod. and Dev.* 48: 9-17.
- Voelkel S., Hu Y. 1992. The use of ethylene glycol as a cryoprotectant for bovine embryos allowing direct transfer of frozen thawed embryos to recipient females. *Theriogenology*. 37: 687-697.

## Evaluación de índices reproductivos por efecto de la inseminación artificial y monta controlada en ovinos en comunidades de Oruro y La Paz

<sup>1</sup> Vera Ruben; <sup>1</sup> Quispe Cesar; <sup>2</sup> Huanca Richard

<sup>1</sup> Carrera de Ingeniería en Zootecnia e Industria Pecuaria, Universidad Pública de El Alto  
2 IPDSA - MDRyT

*E-mail de contacto:* [veraruben@hotmail.es](mailto:veraruben@hotmail.es)

**Resumen.** La investigación se realizó en Oruro y La Paz, para evaluar los índices reproductivos por efecto de la inseminación artificial y monta controlada en ovinos, la IPDSA – MDRyT a través del *Proyecto Ovinos*, el año 2017 realizó la inseminación artificial (IA) de 6178 y monta controlada (MC) de 3168 ovinos; se tomaron datos de 800 ovinos (400 IA y 400 MC) razas Hampshire Down y Corriedale. Para el análisis estadístico se utilizó un diseño de bloques al azar, con arreglo factorial y prueba múltiple de Duncan. El celo fue de 78.62%; animales de 2 y 4 dientes fueron inferiores a los de 6 y 8 dientes. La raza Hampshire Down presentó 80.75% superior a Corriedale 76.5%; en La Paz fue 81.25% superior a Oruro (76%). La fertilidad fue del 66%, animales de 2 y 8 dientes fueron inferiores a los de 6 dientes pero similares a los de 4 dientes, animales con IA tuvieron 58.61%, inferior a MC (73.44%). La parición fue de 67.24%, animales de 2 y 8 dientes fueron inferiores a los de 6 dientes, similares a los de 4 dientes, en La Paz fue 65.16%, inferior a Oruro (69.32%), animales con IA tuvieron 59.30%, inferior a MC (75.19%). La prolificidad fue del orden de 102.35%, no habiendo diferencias para otros factores. El peso al nacimiento fue de 4.3 kg; corderos de madres de 2 dientes fueron inferiores a los corderos de madres de 8, 6 y 4 dientes, en La Paz tuvieron 3.8 kg, inferior a Oruro (4.79 kg), corderos nacidos por IA tuvieron 4.23 kg, inferiores a los de MC: 4.37 kg.

**Palabras clave:** Prolificidad; Fertilidad; Razas ovinas; Reproducción

### Introducción

En Bolivia, según el INE (en el año 2013) la población de ovinos fue de 6.267.743 de cabezas; de este total 1.599.822 machos y 4.667.921 hembras. En los departamentos de La Paz y Oruro se encuentran 2.987.224 ovinos, lo que representa el 48% de la población de ovinos a nivel nacional.

Actualmente en el mercado, el precio de la lana de ovino ha decaído por la competencia con las fibras sintéticas, por lo que la ganadería ovina se tiene que orientar a la producción de carne, dejando en se-

gundo plano la producción de lana, para esto se tiene que buscar ovinos que tengan una buena ganancia de peso.

La ganadería ovina en los departamentos de La Paz y Oruro, desarrolló hasta el punto en el que se cuenta con la presencia de varias razas y la presencia de mestizos de estas razas con la Criolla, tales son las razas Hampshire Down, Suffolk, Corriedale, Targhee, Ramboulet, Assaf, Asblack, producto de la introducción por entidades del estado y ONG, en apoyo a los productores de ovinos, que en su mayoría hasta ahora cuentan con los ovinos Criollos.

No se tiene experiencias a nivel de campo del manejo reproductivo con la inseminación artificial y la monta controlada, menos con información técnica de los indicadores reproductivos y productivos que den cuenta del incremento de la producción y mejoramiento de estas razas, si bien existen las razas ya mencionadas las mismas no se las maneja de forma eficiente en la reproducción, de manera que ofrezca notables incrementos en la producción.

Es por esto que el Estado, a través de la intervención de la institución pública desconcentrada *Soberanía Alimentaria del Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras* a través del *Proyecto Ovinos*, el año 2017 establece mecanismos de manejo reproductivo y realizó la inseminación artificial de 6178 borregas y monta controlada de 3168 borregas, base en la cual se incursionó con el presente trabajo de investigación, con el fin de ofrecer a los productores información real acerca de los índices reproductivos de los ovinos mejorados de la raza Hampshire Down y Corriedale, en los departamentos de La Paz y Oruro. Por consiguiente el presente trabajo de investigación tiene por objetivo evaluar los índices reproductivos por efecto de la inseminación artificial y monta controlada en ovinos en comunidades de los departamentos de Oruro y La Paz.

## Materiales y métodos

El estudio se realizó en los municipios de Sica Sica y Papelpampa del departamento de La Paz y los municipios de Toledo y El Choro del departamento de Oruro, considerando que estos municipios están ubicados en la rivera del río Desaguadero.

Se realizó la selección de familias participantes para la inseminación artificial y monta controlada en sus hatos en los municipios indicados. Dicha selección se basó en la disponibilidad de manejo, cuidado y control de los animales tratados, disponibilidad de pastoreo, principalmente la inquietud de incursionar con las actividades de inseminación artificial y la monta controlada. Una vez seleccionadas las familias participantes, se desarrollaron las siguientes actividades:

**Selección e identificación de vientres.** Se seleccionaron hembras vacías (sin gestar) mediante el uso de un ecógrafo, hembras de mayor tamaño y con un amplio canal de parto, las edades de las hembras oscilaron de entre 1.5 años hasta 4.5 años (2 dientes a boca llena), estas hembras se identificaron con aretes y se registraron en planillas diseñadas para esta actividad, posteriormente las hembras seleccionadas se desparasitaron, vitaminizaron y mineralizaron.

**Sincronización de celo.** Se realizó la sincronización de celo, con la aplicación de hormonas, la misma que tuvo una duración de 10 días, conforme el siguiente detalle:

**Día 1:** la aplicación de dispositivos CIDR que contiene progesterona 0.3 g.

**Día 7:** administración de la hormona eCG (Gonadotropina Corionica Equina) 300 UI

**Día 8:** retiro del dispositivo CIDR y la administración de PGF2 $\alpha$  0.5 ml por borrega.

**Día 9:** introducción de machos vasectomizados para la detección de celo.

**Día 10:** inseminación artificial seguida de la aplicación de análogo de la hormona GnRH 2 ml (acetato de buserelina a concentración de 0.0042 mg/ml).



**Colección y tratamiento de semen.** El centro de mejoramiento genético de ovinos implementado por la IPDSA, ubicado en la localidad de Toma Toma (Oruro), alberga a 11 carneros de la raza Hampshire Down y 11 carneros de la raza Corriedale, con certificado de pedigrí, los mismos fueron importados desde Argentina y Perú, de los cuales 3 carneros de la raza Hampshire Down y 3 carneros de la raza Corriedale, fueron utilizados como donadores de semen para la inseminación artificial. Los eyaculados fueron volúmenes mayores a 1 ml, concentración de 3500 millones de espermatozoides por ml, una motilidad progresiva de más de 70%. Una vez colectado el semen se realizó la dilución con el dilutor comercial Andromed, posteriormente se realizó la refrigeración dentro de un tecnopor a 5°C; por último se trasladó a las comunidades para la aplicación en las borregas en celo.

Para el caso de la monta controlada, los productores que optaron por esta metodología, hicieron el esfuerzo de adquirir machos mejorados, los mismos que se utilizaron para el cruzamiento con las hembras ya sincronizadas.

Evaluado el semen de dichos carneros, éste presentó similares características a los del centro de mejoramiento genético.

**Inseminación artificial y monta controlada.** Una vez identificadas las hembras en celo con ayuda de retajos, se procedió a depositar el semen refrigerado con la ayuda de los instrumentos (espéculo y la insemineta) en el tracto reproductor de la borrega (cérvix). Este proceso se repitió 20 días después de la inseminación artificial, con aquellas hembras que no quedaron preñadas, para lo cual se introdujo retajos al rebaño para la detección de celo.

La monta controlada se implementó realizando control individual, introduciendo los carneros mejorados de los propios productores, al rebaño de hembras sincronizadas en celo; se separó las borregas empadras a otro corral, para dar efectividad en el uso de los carneros. Se repitió esta actividad 20 días después de la monta.

**Toma de datos.** Se tomaron datos de 800 borregas, de las cuales 400 tuvieron inseminación artificial, pertenecientes a 20 familias de las comunidades de Toma Toma, Chuquiña, Rancho Grande, Cholapata en Oruro y Unupata Centro, Laruta Circa Grande, Rivera Centro, Toloma Rivera, Milla Milla, Tarucamarca en La Paz y 400 con monta controlada, pertenecientes a 9 familias de las comunidades de Toma Toma, Chuquiña de Oruro y Unupata Centro, Rivera Centro, Rivera Alta, Milla Milla de La Paz. De todo este grupo de animales, 17 rebaños eran de la raza Corriedale y 12 rebaños de la raza Hampshire Down.

Para evaluar el porcentaje de presencia de celo de las hembras tratadas para la sincronización de celo, se determinó una vez introducidos los retajos, por la relación de hembras que presentaron el celo respecto a las hembras tratadas.

Para encontrar el porcentaje de fertilidad, se consideró la relación porcentual de las hembras que parieron, con relación a las hembras que fueron inseminadas o que fueron sometidas a monta controlada.

Para el porcentaje de parición se consideró la relación porcentual de la cantidad de corderos que nacieron, con relación a las hembras que fueron inseminadas o que fueron sometidas a monta controlada.

Para evaluar el porcentaje de prolificidad se tomó en cuenta la relación porcentual de la cantidad de corderos que nacieron con relación a las hembras que parieron.

Para el peso vivo al nacimiento se realizó el control de peso vivo durante el primer día de vida de la cría, en el mismo se realizó el manejo del parto; no se observó partos distócicos ni la presencia de malformaciones.

El análisis estadístico utilizado fue un diseño de bloques al azar, con arreglo factorial de 2 \* 2 \* 2 (raza, departamento, técnica reproductiva), a un nivel de significancia del 5%, y para las comparaciones de medias se realizó la prueba de Rango Múltiple de Duncan.

## Resultados y discusión

En el Cuadro 1 se muestra los resultados observados para las diferentes variables.

El celo (en %) fue 78.62, con un CV de 6.63, animales de 2 y 4 dientes con 69.5 y 73.5 fueron inferiores a los de 6 y 8 dientes con 86.5 y 85, esto se atribuye a que las hembras de menor edad no responden de manera eficiente a estímulos de agentes químicos externos, asimismo el ciclo estrual de las hembras primerizas no es bien marcado, la raza Hampshire Down presentó 80.75 superior a Corriedale 76.5, variación que se atribuye a que esta raza tiende a presentar celo de manera continua, distinto a la raza Corriedale, en La Paz fue 81.25 superior a Oruro 76.

**Cuadro 1.** Índices reproductivos por efecto de la inseminación artificial Y monta controlada en ovinos en comunidades de Oruro y La Paz

Raza	Depto.	Técnica reproductiva	Presencia de celo (%)	Fertilidad (%)	Parición (%)	Prolificidad (%)	Peso al nacimiento (kg)
Hampshire Down	La Paz	Monta controlada	83.0	68.83	72.34	106.54	3.9
		Inseminación artificial	87.0	57.65	57.65	100.00	3.7
	Oruro	Monta controlada	81.0	74.65	75.69	101.73	4.8
		Inseminación artificial	72.0	61.01	63.78	106.14	4.7
Corriedale	La Paz	Monta controlada	76.0	73.57	74.88	102.72	4.0
		Inseminación artificial	79.0	55.79	55.79	100.00	3.7
	Oruro	Monta controlada	78.0	76.74	77.83	101.73	4.8
		Inseminación artificial	73.0	59.99	59.99	100.00	4.8
<b>Promedio</b>			<b>78.62</b>	<b>66.02</b>	<b>67.24</b>	<b>102.35</b>	<b>4.3</b>

Esto también se puede deber al tamaño de los animales, ya que en La Paz son ligeramente más pequeñas que los de Oruro, por lo mismo el efecto de las dosis empleadas en la sincronización de celo pudo haber influido.

Según Canqui *et al.* (2011), en Oruro al aplicar esponjas intravaginales para sincronización de celo, se encuentra una presencia de celo del 70%. Asimismo Magno (2015), reporta 94.74% y 100% de borregas Corriedale, que entraron en celo con la utilización de eCG.

Los resultados encontrados en la presente investigación son similares a lo encontrado por Canqui *et al.* (2011) e inferiores a los encontrados por Magno (2015), debido a que las actividades fueron realizadas a nivel de campo.

La fertilidad (en %) fue 66.02, con un CV de 9.45%. Animales de 2 y 8 dientes con 64.63 y 61.57 fueron inferiores a los de 6 dientes, con 71.5 pero similares a los de 4 dientes con 66.4, esto se atribuye a la menor experiencia de parte de los animales de menor edad y el cansancio de las hembras de boca llena. Animales inseminados artificialmente tuvieron 58.61, inferior a los animales con monta controlada (73.44), diferencia que se atribuye a la mayor presencia de los machos con las hembras, ya que a la repetición del celo de las hembras, los machos tuvieron la ventaja de volver a montar en más ocasiones, frente a la inseminación artificial que se realizó una sola vez a las hembras que volvieron a presentar celo.

La parición (en %) fue 67.24, con un CV de 8.34%. Animales de 2 y 8 dientes con 64.63 y 62.76 fueron inferiores a los de 6 dientes con 73.11 y similares a los de 4 dientes con 68.48. Por similares características para fertilidad, en La Paz fue

65.16, inferior a Oruro 69.32, debido a que en Oruro se encuentran especies forrajeras de mayor calidad, asimismo la mayoría de las familias cuentan con riego y esta condición alimenticia pudo influir.

Las hembras inseminadas artificialmente tuvieron 59.30, inferior a con monta controlada 75.19, lo cual se atribuye a la mayor presencia de los machos con el rebaño a diferencia de la inseminación artificial. Según Brebion (2005), la tasa de natalidad en ovinos Corriedale es mayor al 90% y está directamente relacionada con el momento de servicio y manejo. Ortega, (2017) reporta en un estudio en la estación experimental Choquenaira, valores de parición de 55.56% y 66.57%, obtenidos mediante la inseminación artificial con semen fresco; en la localidad de Pan de Azúcar encontró 77.78%, dichos datos son similares a los encontrados en el presente trabajo de investigación.

La prolificidad (en %) fue 102.35, con un CV de 4.18%, no habiendo diferencias significativas para los factores de estudio planteados. Al respecto, Canaza (2017) obtuvo en ovinos de la raza Assaf valores de 130.8% y 128.6% de prolificidad con dosis de 250 y 350 UI de eCG, en Ayaviri, distrito Umachiri en Puno, Perú, mostrando valores superiores a los del presente trabajo; esta superioridad se atribuye a la metodología experimental realizada, considerando que el presente trabajo se desarrolló a nivel de campo.

Para peso al nacimiento, éste en promedio fue de 4.3 kg, con un CV de 3.86%, para corderos de madres de 2 dientes fue 3.92 kg, inferior a los corderos de madres de 8, 6 y 4 dientes con 4.38 kg, 4.45 kg y 4.46 kg, respectivamente, debido al tamaño del vientre de las hembras.

En La Paz se tuvo 3.81 kg, inferior a Oruro (4.79 kg), esto se atribuye a la alimentación recibida por las hembras en la gestación.

Corderos nacidos por inseminación artificial tuvieron una media de 4.23 kg, valor inferior a la media de corderos nacidos por monta controlada (4.37 kg), se espera que la genética de los padres se manifieste en la ganancia de peso y pesos al destete y canal. Los valores encontrados son similares y ligeramente superiores a los registrados por Isidro (2015), quién encontró pesos al nacimiento de ovinos mestizos Corriedale de 3.87 kg, 4.04 kg y 3.95 kg en tres comunidades del municipio de Santiago de Callapa provincia Pacajes de La Paz, esto se atribuye a que en la presente investigación se utilizaron reproductores machos de pedigri.

## Conclusiones

- La monta controlada, se destaca frente a la inseminación artificial, si acaso la primera técnica se realiza de manera adecuada, aplicando sincronización de celo, correcta detección de celo con presencia de buen número de retajos y seguimiento del servicio de monta. Consecuentemente esta técnica es mucho más eficiente que el manejo reproductivo que realizan las familias de productores, ofreciendo así mayores índices reproductivos y mayores ingresos económicos.
- La inseminación artificial, como una técnica al alcance de cualquier productor, es sin duda una buena alternativa por las ventajas que ofrece, ya que además de las conocidas, implica ahorro por el mantenimiento de ma-

chos reproductores, limita la presencia de enfermedades y anula los costos de adquisición de machos reproductores. Por ello esta técnica debiera ser adoptada por las familias con lo que se incrementaría la ganancia genética de sus rebaños.

## Referencias citadas

- Brebion P. Baril G., Chesné P. 2005. Manual de formación práctica para el transplante de embriones en ovejas y cabras. ONU - FAO. Roma, Italia. pp. 1-68.
- Canaza A. 2017. Evaluación de la fertilidad y natalidad en borregas de raza Assaf sincronizadas e inseminadas a inicios de época reproductiva. Tesis de grado. Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú.
- Canqui J., Mollo J., Perez M. 2011. Sincronización de celo con prostaglandina y esponjas vaginales en vientres criollas de Lajma y Corriedale del CEAC en dos épocas. Revista Científica de Investigaciones en Ovinos. Universidad Técnica de Oruro. Oruro, Bolivia.
- Instituto Nacional de Estadística. 2015. Censo Agropecuario 2013 Bolivia.
- Isidro W. 2015. Características de manejo y potencial productivo en ovinos Criollos (*Ovis aries*) en tres comunidades del municipio de Santiago de Callapa, provincia Pacajes. Tesina de grado. UMSA. La Paz, Bolivia.
- Magno R. 2015. Efecto de diferentes niveles de eCG sobre la fertilidad de borregas Corriedale inseminadas en época reproductiva. Tesis de grado. Universidad Nacional del Altiplano Puno, Perú.
- Ortega G. 2017. Inseminación artificial con semen fresco en ovinos Corriedale en la estación experimental Choquenaira y comunidad Pan de Azúcar. Tesis para el grado de Lic. Ing. Agr. La Paz Bolivia. UMSA.

## Evaluación de dilutores sobre las características microscópicas seminales post descongelado, de toretes Holstein en el Altiplano de La Paz

Gutiérrez Erlan; Gutierrez Leddy; Callisaya Orlando; Delgado Mijail; Ramos Blanca  
Carrera de Ingeniería en Zootecnia e Industria Pecuaria, Universidad Pública de El Alto

*E-mail de contacto:* [erlangutierrez@hotmail.com](mailto:erlangutierrez@hotmail.com)

**Resumen.** El presente estudio se realizó en la Granja Inmaculada Concepción, ubicada en la comunidad Sulkataka Baja del municipio de Laja (La Paz), a 3900 msnm, con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes dilutores, sobre las características microscópicas seminales de toros jóvenes Holstein, post descongelado. Para ello se emplearon tres toros de dos años de edad. Se utilizó estadística descriptiva, un diseño completamente al azar y la prueba de Tukey para la comparación de medias entre dilutores. Se realizó la colecta de semen una vez por semana, por medio de vagina artificial. Una vez realizada la evaluación macro y microscópica del semen fresco y siendo este de buena calidad, se procedió a realizar el equilibramiento seminal bajo la técnica de un paso, luego se realizó el empajillado (con  $40 \times 10^6$  espermatozoides/ml) para luego congelarlo, de acuerdo a la técnica manual, en una rejilla suspendida a 8 cm sobre vapores de nitrógeno líquido, en una caja de tecnopor. Las variables microscópicas post descongelado evaluadas fueron: movimiento individual progresivo por medio de un equipo CASA, vitalidad y anormalidades. Los resultados mostraron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en la primera variable y no así para anormalidades ( $p \geq 0,05$ ). Los resultados obtenidos demuestran que el dilutor con mejores características, post descongelado, es Andromed<sup>®</sup>.

**Palabras clave:** Bovinos; Reproducción animal; Inseminación artificial; Fertilidad

### Introducción

El proceso de mejora de la lechería bovina en el altiplano, se inició hace décadas con dos propósitos: mejorar los ingresos económicos de los pequeños productores y promover un mayor consumo de leche por parte de la población, tanto rural como urbana.

La inseminación artificial que es un procedimiento biotecnológico reproductivo, ha demostrado ampliamente su gran aporte al mejoramiento genético del ganado bovino productor de leche. Uno de los factores que influyen en esta técnica es la calidad de semen, relacionado con la capacidad reproductiva del macho,

manejo del semen y métodos de crio-preservación (Lozano 2009). Es por ello que cuando se pretende crio-preservar el semen bovino, se debe poner especial atención en los medios en los cuales se va a realizar su dilución y los crio protectores que se va a utilizar, ya que son la clave para obtener un semen de excelente calidad y en las mejores condiciones para obtener altos niveles de fecundación con la inseminación artificial (Carpio, 2015). De ahí que el presente trabajo tiene como objetivo evaluar diferentes dilutores: Andromed<sup>®</sup>, citrato de sodio y citrato de sodio con agua de coco, sobre las características seminales (post descongelado), de toros jóvenes de la raza Holstein en el Altiplano de La Paz.

## Materiales y métodos

El estudio se realizó en la granja *Inmaculada Concepción* de la comunidad Sulkatata Baja, ubicada en el departamento de La Paz, provincia los Andes, municipio autónomo de Laja, durante los meses de julio a noviembre del 2017. La metodología empleada fue del tipo experimental.

**Semovientes.** Se utilizó tres toros de la raza Holstein, de 2 años de edad aproximadamente y con buena evaluación andrológica previa, que confirmó la posibilidad de congelación de muestras seminales.

**Composición del diluyente.** Los medios para la congelación fueron elaborados a base de citrato de sodio con agua de coco y citrato de sodio y un dilutor comercial, en este caso Andromed®.

**Composición de los medios diluyentes.** Los cuadros 1 y 2 detallan la composición de los dilutores empleados.

**Cuadro 1.** Composición de dos dilutores a base de citrato de sodio

Componentes	Dilutor 1	Dilutor 2
Agua de coco	25 ml	--
Agua bi-distilada	--	25 ml
Citrato de sodio 5%	0.59 gr	0.59
Fructosa	0.26 gr	0.26 g
Glicerol	1.25 ml	1.25 ml
Yema de huevo	5 ml	5 ml
Gentamicina	0.25 ml	0.25 ml

Fuente: Tomado sobre la base de Vale, 2011

**Cuadro 2.** Composición del dilutor comercial Andromed®

Fosfolípidos
Tris
Ácido cítrico
Azúcares
Antioxidante
Tampones
Agua de altísima pureza
Antibióticos

Fuente: Minitube, 2014

**Colección de semen.** Para la colección de semen se utilizó una vagina artificial que se llenó con agua caliente (45°C) y aire, con el fin de proveer el estímulo adecuado de temperatura y presión, lográndose así la eyaculación. En uno de los extremos del cilindro se acopló un embudo de caucho unido a un tubo de vidrio graduado, protegido de la luz y del frío por una funda protectora (Muiño 2008; Morillo et al. 2012).

**Congelación de semen.** Luego de colectadas las muestras seminales, se inició el proceso de equilibrio del semen. Para ello se absorbió manualmente para el llenado de las pajuelas y se selló con plastilina no tóxica, a 5°C (Galarza et al. 2015). Se empajilló con 30 millones de espermatozoides (Jiménez 2010).

La crio conservación de pajuelas se efectuó sobre rampas en vapor de nitrógeno, a una altura de 4 cm sobre el nivel de nitrógeno líquido, por un tiempo de 10 minutos, luego se dejó caer las pajuelas de semen al nitrógeno líquido y luego al termo criogénico a una temperatura de -196°C (Minitube, 2014).

**Evaluación del semen post descongelado.** Las pajuelas al estar crio preservadas, pueden estar por tiempo indefinido en nitrógeno líquido, sin embargo en el presente trabajo se requirió realizar el análisis post descongelación, por lo que se procedió -luego de 3 meses de almacenamiento en termo criogénico- a descongelar en baño maría a 37°C, durante 20 segundos y posteriormente se realizó la evaluación del semen al microscopio óptico a 40x, con el uso de una platina térmica a 37°C (Damas 2010).

**Análisis estadístico.** Para el análisis estadístico se utilizó un Diseño Completamente al Azar, a fin de evaluar el efecto de los dilutores sobre las características microscópicas del semen post descongelado, de toros jóvenes y un análisis de comparación de medias por medio de Tukey al 5%, ( $\alpha=0,05$ ). Se utilizó estadística descriptiva para la evaluación de las características macro y microscópicas del semen fresco de bovino, utilizando para ello el software SPSS.

## Resultados y discusión

Para la evaluación de motilidad individual progresiva post descongelado, se utilizó el equipo CASA<sup>®</sup>, colocando 4  $\mu$ l de semen descongelado en la cámara

Spermtrack a 37°C. Por otro lado, para evaluar la vitalidad y anomalías espermáticas post descongelado, se utilizó un microscopio trinocular.

Los resultados del uso de dilutores para la congelación de semen bovino se muestran en el Cuadro 3, resultando Andromed con diferencias significativas para motilidad individual progresiva. Nuñez y Rubio (2015) registraron un promedio de 44.3% de motilidad individual post descongelado, con este dilutor comercial Andromed, valor inferior al reportado en el presente estudio. Probablemente los resultados variaron debido a que cada investigación fue realizada por el método de evaluación seminal subjetiva.

Del mismo modo la vitalidad espermática post descongelado, mostró mejores resultados para Andromed, en comparación con los otros diluyentes. Estos valores son inferiores a los reportados por Galarza (2013), que alcanzó un promedio de 48,96% de vitalidad. Asimismo, Rubio *et al.* (2009) consiguieron resultados de 48,40%, probablemente la variación se debe a que cada investigación fue realizada en diferentes condiciones ambientales y diferentes tipos de manejo del ganado considerado.

**Cuadro 3.** Evaluación de las características microscópicas de semen post descongelado

Variable evaluada	Dilutores			Significancia
	Andromed <sup>®</sup>	Citrato de sodio + agua de coco	Citrato de sodio	
MIP (%)	46.67 $\pm$ 7.05 a	39.61 $\pm$ 2.04 b	34.78 $\pm$ 2.93 c	*
VIT (%)	45.29 $\pm$ 3.81 a	41.69 $\pm$ 5.09 ab	41.42 $\pm$ 4.92 b	*
Anorm. (%)	7.75 $\pm$ 1.82 ab	8.93 $\pm$ 1.20 ab	8.42 $\pm$ 1.25 ab	ns

Valores con letras diferentes, para cada fila, indican diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ) MIP: motilidad individual progresiva; VIT: vitalidad espermática; Anorm.: anomalías espermáticas. \*: Significativo ( $p \leq 0,05$ ); ns: no significativo ( $p \geq 0,05$ ).

Los valores obtenidos para las anomalías espermáticas con los tres dilutores no difirieron significativamente. Los resultados obtenidos son inferiores a los reportados por Galarza (2013), quien reporta 10,48% de anomalías con el Andromed<sup>®</sup>, diferencias que se deban probablemente al ambiente y tipo de manejo al que fue sometido los animales.

## Conclusiones

- Los dilutores obtuvieron una influencia significativa en la motilidad individual progresiva y en el porcentaje de vitalidad, donde el dilutor Andromed<sup>®</sup> obtuvo un mejor resultado con respecto a los otros diluyentes.
- Para las anomalías espermáticas, post descongelado, no hubo diferencia estadística. Numéricamente, con Andromed<sup>®</sup> I, se tuvo menor proporción de estas anomalías, lo cual indica que los medios diluyentes, sí tienen un efecto beneficioso sobre las características microscópicas de semen post descongelado.

## Referencias citadas

- Carpio S. 2015. Evaluación de dos diluyentes para la crío-preservación de semen bovino: yema de huevo vs. leche descremada. Tesis. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. pp. 6.
- Damas R. 2010. Evaluación de dos dilutores comerciales en semen congelado de toros en el banco nacional. Tesis presentada para optar el título profesional de Ingeniero Zootecnista. Huancayo, Perú.
- Galarza 2013. Eficacia de dos diluyentes. Tris lecitina de soya (Andromed<sup>®</sup>) y tris + yemas de huevo 8Tryladyl<sup>®</sup>), en la crío-preservación de semen de toro de la raza Jersey, en Cuenca, Ecuador. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Cuenca. Ecuador.
- Galarza D., Sirpa V., Torres C. 2015. Comparación de dos medios para congelar semen de toro y la influencia de tres tiempos de equilibración en la calidad post-descongelación. Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca. Ecuador.
- Jiménez C. 2010. Técnicas de congelación y sexado del semen bovino y su importancia en reproducción bovina. Tesis de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. pp. 6.
- Lozano H. 2009. Factores que afectan la calidad seminal en toros. Clínica de la reproducción. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia sede Bogotá. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. pp. 15.
- Minitube. 2014. Andromed: Diluyente sin yema de huevo para semen bovino. Guía de uso del producto. Tiefenbach, Alemania. 2 p.
- Morillo M., Salazar S., Castillo E. 2012. Evaluación del potencial reproductivo del macho bovino. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Maracay, Venezuela. 63 p.
- Muiño O. 2008. Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas CASA y Citometría de flujo: identificación de sub-poblaciones espermáticas. Tesis Universidad de Santiago de Compostela. Galicia, España. 157 p.
- Núñez A., Rubio A. 2015. Compensación de la calidad biológica del semen bovino post congelado utilizando como crioprotector leche al 2% de grasa, Andromed y Continental One Step. Proyecto especial de graduación. Escuela Profesional de Zamorano. Tegucigalpa, Honduras. 26 p.
- Vale G. 2011, Avances biotecnológicos en reproducción de búfalos. Vol. 24, Nro.5. Revista Científica Tecnología en Marcha. Cartago, Costa Rica. Vol. 24, 5:89-104.



## Efecto de la castración química sobre el comportamiento productivo y conducta agresiva del cuy (*Cavia porcellus* L.)

Callizaya Richard; Machicado Richard; Guzmán Jorge

Carrera de Ingeniería Zootécnica; Unidad Académica Campesina Tiahuanacu;  
Universidad Católica Boliviana

*E-mail de contacto: maxtor93@hotmail.com*

---

**Resumen.** La presente investigación se realizó en la comunidad de Curva Pucara, municipio de Laja, departamento de La Paz, con el objetivo de probar la influencia de la castración química de cuyes con: alcohol yodado (T2) y ácido láctico (T3) frente a un tratamiento testigo (T1), sobre las variables productivas, conductuales y económicas, durante la etapa de crecimiento y engorde. Se utilizaron 30 cuyes destetados de la línea Tamborada, los cuales fueron distribuidos en grupos de 10, la técnica de la castración se realizó por inyección vía intratesticular. Se evaluó la ganancia de peso vivo (GPV), ganancia media diaria (GMD), consumo diario de alimento (CDA), conversión alimenticia (CA), rendimiento en canal (RC), mortalidad (M), agresividad (A) y la tasa de retorno marginal (TRM). Se empleó un diseño completamente al azar para variables cuantitativas analizadas mediante un análisis de varianza; la variable cualitativa fue determinada mediante el Test Chi-cuadrado. Los resultados no detectaron diferencias significativas para GPV (promedio 0.2733 g); GMD (promedio 0.2742); CDA (promedio 0.1456 g); CA (promedio 0.1859 g); RC (promedio 0.6080 g); la mortalidad fue mínima y para evaluar la agresividad, se observó directamente la calidad de canal de los cuyes faenados, en base a la presencia de heridas, evaluando en 3 grados: alto, medio y bajo, mostrándose diferencias significativas ( $\chi^2$  corregido = 9.8 > 9.49) y para la TRM, se obtuvo mejor retorno si pasa del T1 al T3 con 383%. Por el análisis económico realizado, se sugiere optar por cambiar la técnica tradicional de crianza de cuyes y añadir la técnica de castración química, con lo cual se tendrían tasas de retorno marginal positivas.

---

## Evaluación de tres dilutores y dos temperaturas de descriogenización sobre las características microscópicas del semen de ovinos (*Ovis aries*) Hampshire Down

Pablo Rudy; Delgado Pedro; Machicado Richard

Carrera de Ingeniería Zootécnica, Unidad Académica Campesina Tiahuanacu;  
Universidad Católica Boliviana

*E-mail de contacto:* [maxtor93@hotmail.com](mailto:maxtor93@hotmail.com)

---

**Resumen.** El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de tres dilutores y dos temperaturas de descriogenización (70°C y 37°C) sobre las características microscópicas del semen de ovinos Hampshire Down pre y postcongelado, en la Unidad Académica Campesina de Tiahuanacu. Se utilizaron varios eyaculados, tres dilutores y dos temperaturas de descriogenización. El semen ovino colectado presentó un volumen de  $1.61 \pm 0.54$  ml, un color blanco cremoso y un pH de  $6.8 \pm 0.22$ . La concentración espermática fue de  $2539 \cdot 10^6$  espermatozoides por ml, la motilidad masal e individual fue de 92.33% y 84.80%, respectivamente, presentando espermatozoides normales y vitalidad de 95.47% y 89.62%. Los valores encontrados están dentro de los rangos descritos por otros autores. Tanto en 70°C como 37°C, el dilutor ANDROMED, fue estadísticamente superior ( $p < 0.05$ ) al TRIS y LECHE, en términos de mantener móviles y vivos a los espermatozoides, desde las 0 hasta las 12 horas post-descongelamiento; la descriogenización a 70°C mostró en todos los casos, un mayor porcentaje de motilidad y vitalidad de espermatozoides de ovinos, manteniendo por un rango de 9 horas con una motilidad y vitalidad superior al 50%. Hay un marcado efecto positivo de los dilutores LECHE y TRIS descriogenizados a 70°C, para conservar una mayor motilidad y vitalidad espermática de semen de ovinos de la raza Hampshire Down.

---

## Evaluación del estro y preñez en vacas (*Bos taurus* L.) mestizas post sincronización, en Colquencha, La Paz

Eleuterio Maraza; Fortunato Limachi; Machicado Richard

Carrera de Ingeniería Zootécnica, Unidad Académica Campesina Tiahuanacu;  
Universidad Católica Boliviana

*E-mail de contacto: maxtor93@hotmail.com*

---

**Resumen.** Se evaluó la presencia de estro y preñez en vacas (*Bos taurus* L.) mestizas primerizas y multíparas, post sincronización e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) 60 días, en 14 vacas primerizas y 20 vacas multíparas. La distribución fue al azar en dos grupos. El protocolo Ovsynch con 7 primerizas y 10 multíparas: un análogo de GnRH vía intramuscular (IM) el día 0, el día 7 se aplicó prostaglandina vía IM, el día 9 se aplicó por última vez un análogo de GnRH vía IM, posteriormente entre los 16 a 18 horas se realizó la IATF. El protocolo DIV con 7 primerizas y 10 vacas multíparas fue: el día 0 se implanto el dispositivo intravaginal (DIV) + la inyección de BE (Benzoato de Estradiol) vía IM, el día 8 se retiró el DIV, luego se administró Novormon (análogo sintético de la eCG) y se administró PGF $2\alpha$ , ambos vía IM; el día 9 se administró BE vía IM, para luego, entre 52 a 56 horas aplicar la IATF. El porcentaje de estro con protocolo Ovsynch y DIV, fue 71% y 65%, respectivamente. Para las etapas reproductivas, los resultados fueron: 64% de estro en primerizas y 70% de estro en multíparas. Finalmente el diagnóstico de preñez mediante la técnica de palpación rectal, a 60 días post IATF, se encontró: Protocolo Ovsynch y DIV con 59% de preñez, para las etapas reproductivas, 50% de preñez en primerizas y 65% en vacas. Se concluye que el porcentaje de preñez no depende de los protocolos ni de las etapas reproductivas ( $\alpha = 0.05$ ).

---

## Efecto de dos dilutores comerciales en la viabilidad espermática de llamas (*Lama glama* L.) en semen colectado mediante aspiración vaginal en dos edades en la UAC Tiahuanacu

Condori Amalia; Paxipati Rolando; Loza Manuel

Carrera de Ingeniería Zootécnica, Unidad Académica Campesina Tiahuanacu;  
Universidad Católica Boliviana

E-mail de contacto: [rolandopaxipati@hotmail.com](mailto:rolandopaxipati@hotmail.com)

---

**Resumen.** El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Reproductiva de la Unidad Académica Campesina Tiahuanacu, ubicado en la provincia Ingavi del departamento de La Paz, dependiente de la Universidad Católica Boliviana "San Pablo". El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de dos dilutores comerciales (AndroMed y Triladyl) en la viabilidad espermática en llamas (*Lama glama*), a partir del semen colectado mediante aspiración vaginal en dos edades. El semen colectado fue diluido y refrigerado a 4°C, se evaluó cada 6 horas durante 24 horas. Para el análisis de la viabilidad espermática pos-refrigerado, se empleó un diseño completamente al azar bifactorial. Los resultados muestran que en cuanto a las características macro y microscópicas del semen, se obtuvo un volumen de 3.4 ml, color rojo claro, pH de 8.4, filancia 0, concentración  $38.8 * 10^6$ /ml, motilidad 74.3%, vitalidad 80.9%. Asimismo, con los dilutores comerciales Triladyl y AndroMed, se logró mantener una motilidad de 64.36% y 55.92% y una vitalidad de 67.57% y 61.37% hasta las 24 horas, destacando en la refrigeración el dilutor Triladyl, el cual es recomendable para su refrigeración y posterior utilización en trabajos de inseminación artificial.

---

## Determinación de las características macroscópicas y microscópicas del semen de carachis (*Orestias agassii* y *Orestias luteus*)

Paxipati Rolando

Carrera de Ingeniería Zootécnica, Unidad Académica Campesina Tiahuanacu;  
Universidad Católica Boliviana

*E-mail de contacto: rolandopaxipati@hotmail.com*

---

**Resumen.** El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Reproductiva de la Unidad Académica Campesina Tiahuanacu, ubicado en la provincia Ingavi del departamento de La Paz, dependiente de la Universidad Católica Boliviana. El objetivo de la investigación fue determinar las características macroscópicas y microscópicas del semen de carachis (*Orestias agassii* y *Orestias luteus*) en etapa reproductiva. Se seleccionaron 10 *Orestias agassii* y 10 *Orestias luteus*. La colección de semen fue realizada por aspiración del orificio genital con micro pipeta, se realizó la valoración macroscópica (volumen, color, pH) microscópica (concentración, motilidad, morfología, vitalidad). La evaluación estadística de los resultados obtenidos se realizó mediante la prueba de T-Student. Los resultados obtenidos para *Orestias agassii* y *Orestias luteus* fueron: color blanco lechoso para ambos, volumen (ml)  $0.0097 \pm 0.0006$ ;  $0.04 \pm 0.0047$ ; motilidad (%)  $91,3 \pm 3.52$ ;  $83.2 \pm 6,44$ . Se hallaron diferencias significativas entre especies ( $p < 0.05$ ); para el pH se tuvo  $8.5 \pm 0$ ;  $8.4 \pm 0.21$ , vitalidad (%)  $72.5 \pm 19.45$ ;  $82.85 \pm 10.41$ , morfología (%)  $81.454 \pm 8.23$ ;  $85.0 \pm 4.71$ . No se hallaron diferencias significativas entre especies ( $p > 0.05$ ). Los resultados encontrados, contribuirán a coleccionar semen para futuros trabajos en inseminación artificial y criogenización, entre otros.

---

## Evaluación de dos métodos de crío preservación en la viabilidad espermática del semen de llamas (*Lama glama* L.) en Tiahuanacu

Choque - Chambilla Josue; Paxipati Rolando

Carrera de Ingeniería Zootécnica, Unidad Académica Campesina Tiahuanacu;  
Universidad Católica Boliviana

*E-mail de contacto:* [rolandopaxipati@hotmail.com](mailto:rolandopaxipati@hotmail.com)

---

**Resumen.** El proceso de crío preservación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Reproductiva de la Unidad Académica Campesina de Tiahuanacu, el cual es ampliamente empleado en programas de reproducción y mejora genética de diversas especies. El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar dos métodos de crío preservación (pellets y pajuelas) en la viabilidad espermática del semen de llamas (*Lama glama* L.), utilizando crío protectores comerciales y colectados mediante aspiración vaginal. Se encontró una motilidad de 89.5% y una vitalidad de 74.23%. Se utilizó dos dilutores comerciales (Triladyl y Andromed). Según el protocolo, previo a la refrigeración, se evaluó la motilidad donde se obtuvo 62.5% y una vitalidad de 67.45%, al descenso de temperatura a 5°C durante 2 horas, se empajilló las muestras que superaban el 50% de motilidad; esta evaluación se hizo para los dos métodos de crío preservación. La congelación se realizó en un tiempo de 17 minutos en nitrógeno líquido, posterior al congelado se evaluó las muestras, obteniéndose una motilidad de 41.17% y una vitalidad de 49.24% para el método de pajuelas (con Andromed) y 43.24% de motilidad, 53.01% de vitalidad en pajuelas (con Triladyl) y para pelets se obtuvo un 19.17 de motilidad y una vitalidad de 28.60% para Andromed y 28.19% de motilidad y 42.68% de vitalidad para el dilutor Triladyl. Los protocolos aplicados han demostrado ser bastante eficientes en la conservación de los espermatozoides de llama.

---

## Efecto de dos crioprotectores en la crioconservación de semen de trucha *arco iris* (*Oncorhynchus mykiss*)

Calcina Ivan; Paxipati Rolando; Callisaya Eber

Universidad Indígena Boliviana Aymara Tupak Katari

*E-mail de contacto:* [rolandopaxipati@hotmail.com](mailto:rolandopaxipati@hotmail.com)

---

**Resumen.** La presente investigación se realizó en la Universidad Indígena Boliviana Aymara “Tupak Katari” en la comunidad de Cuyahuani, con el objetivo de evaluar dos crioprotectores, en la crioconservación de semen de trucha *arco iris* (*Oncorhynchus mykiss*) sometido al proceso de crioconservación. Se seleccionaron 10 reproductores con 19 meses de edad, provenientes de la estación piscícola San Pablo de Tiquina, se distribuyeron en T1 (Metanol 8%) T2 (Glicerol 7%) con 5 repeticiones. El semen se extrajo por medio de masajes abdominales, el cual se recolectó en tubos falcón e inmediatamente se realizó la valoración seminal (macro y microscópico), posteriormente se procedió con el protocolo de crioconservación espermática mediante método lento. La deferencia estadística entre los resultados obtenidos se realizó mediante la prueba de T-Student. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: volumen 6.1 ml, pH 8.18, concentración  $6.520 \times 10^6$  espermatozoides por ml, motilidad 89.8%, morfología 89.6% y vitalidad 96.25%. La motilidad post descongelación fue de 79.2% (T1), 67.2% (T2) presentando diferencias significativas entre los crioprotectores glicerol y metanol ( $p \leq 0.05$ ) y la vitalidad 86.78% (T1) y 83.14% (T2), presentando diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). Los resultados la presente investigación muestran que el trabajo realizado es una alternativa viable para la conservación de gametos en la acuicultura.

---