

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

“Evaluación de la motilidad del semen bovino Gyrholando fresco y criopreservado para determinar el porcentaje de motilidad progresiva mayor o igual al 60% con equipo CASA”

Elaborado por:
Hadassa Judith Lara Pazmiño

Director del Proyecto:
Fredy Carrera, Ph.D



Introducción

Sector bovino → rubros más importantes para el país.
Producción: 48% productos lácteos y 45% cárnicos



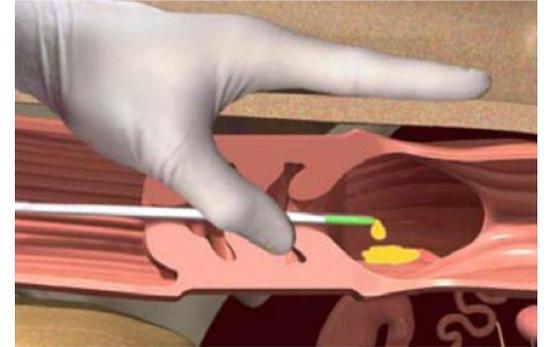
Tecnologías para el mejoramiento genético y reproductivo del ganado.

Análisis de semen fresco

- Características macroscópicas: olor, color y volumen.
- Microscópicas: motilidad, morfología, viabilidad y concentración.

La crioconservación del semen es fundamental para mantener las tasas de producción de carne y leche.

Permite mantener viable el material genético de una especie de interés por tiempo indefinido



Objetivos

General

Evaluar la motilidad del semen bovino Gyrholando fresco y criopreservado para determinar el porcentaje de motilidad progresiva mayor o igual al 60% con equipo CASA.

Específicos

Evaluar la motilidad del semen fresco de bovino Gyrholando para determinar el porcentaje de motilidad progresiva mayor o igual al 60%.

Analizar la motilidad del semen bovino Gyrholando descongelado mediante el uso del equipo CASA.

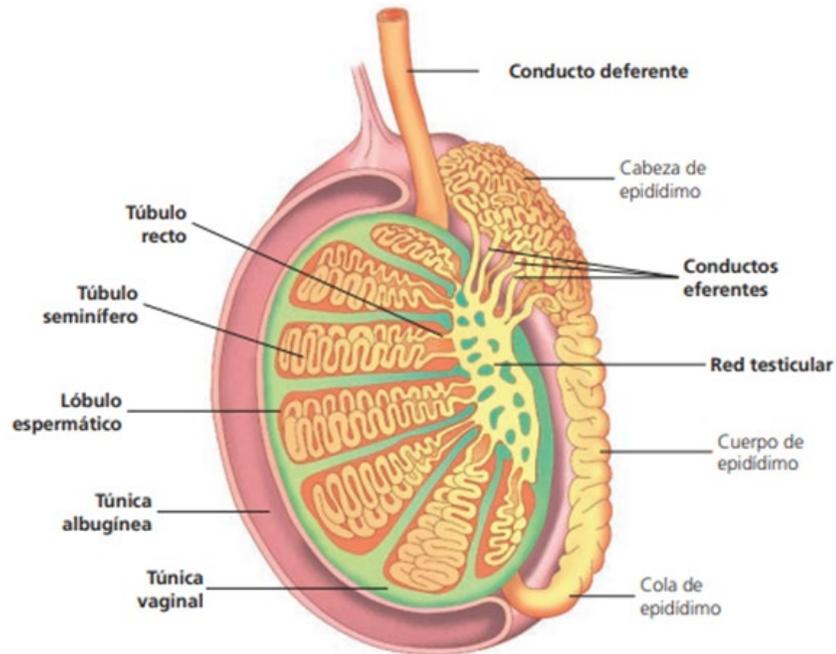
Determinar la relación de la motilidad progresiva con el índice de linealidad de los espermatozoides del semen criopreservado bovino utilizando el equipo CASA.



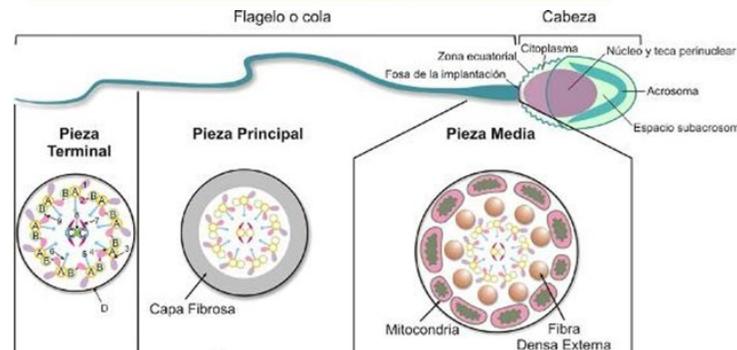
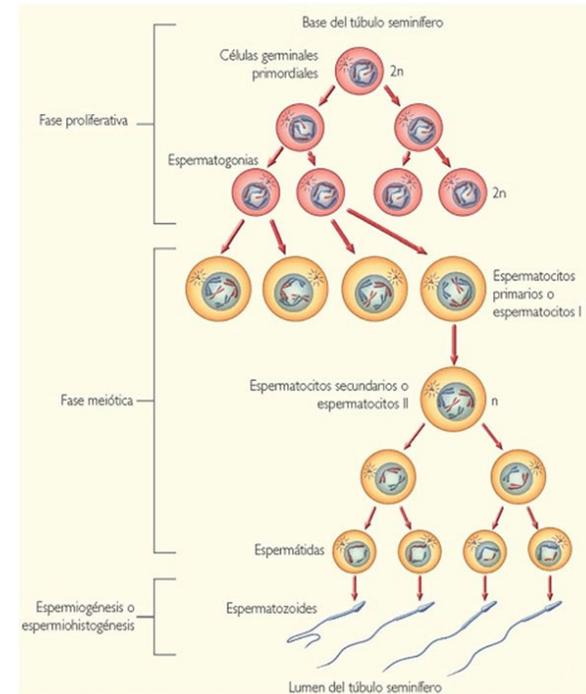
Marco teórico

Aparato Reproductor del Macho

(García, 2018)



Espermatogénesis



La **espermatocitogénesis** cumple una función proliferativa al realizar divisiones mitóticas de la espermatogonia para generar dos espermatogonias tipo A (una activa y otra latente).

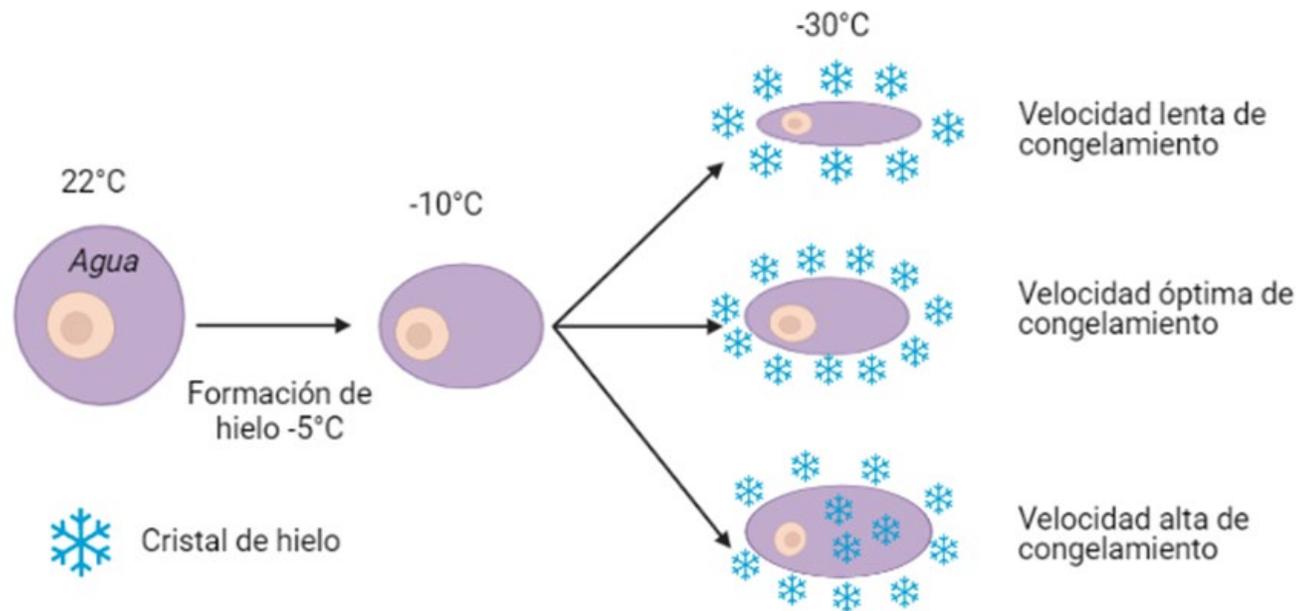
La **espermiogénesis** consiste en la transformación de las espermátidas en espermatozoides dividido en cuatro procesos: formación del acrosoma, condensación del núcleo, formación del flagelo y maduración.

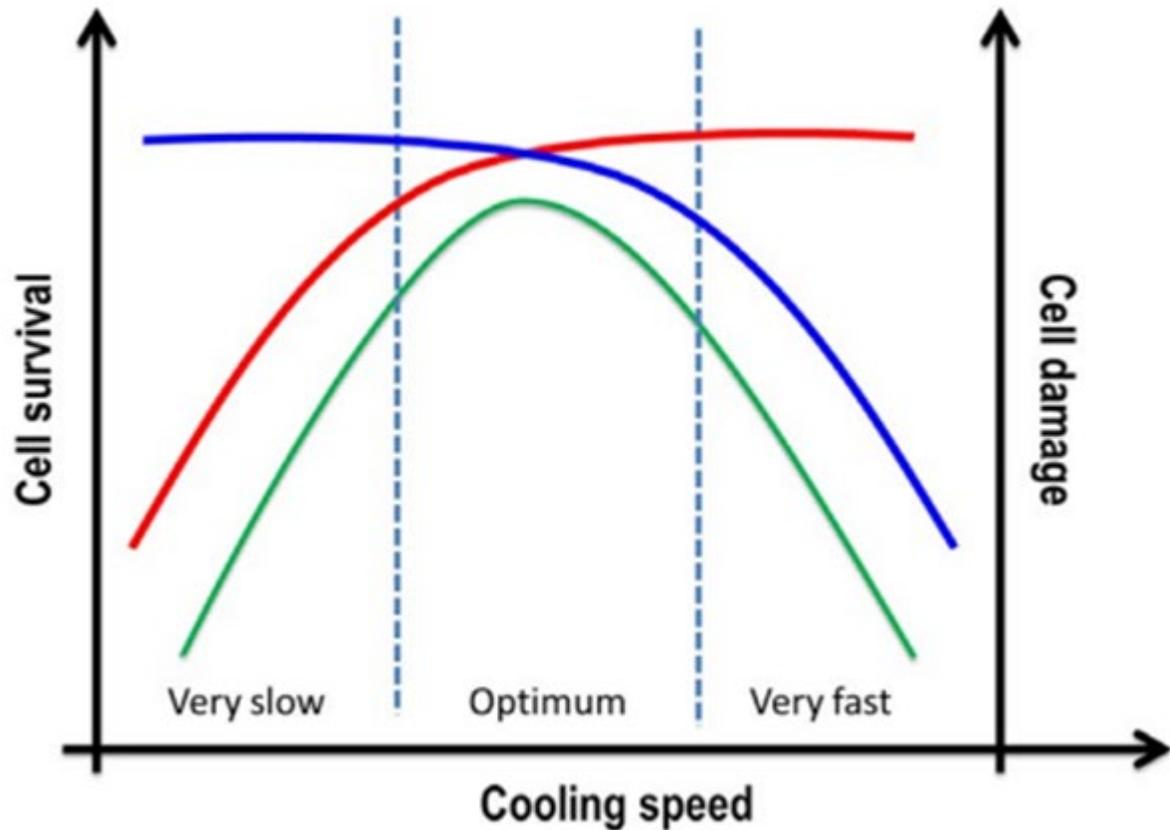


Marco teórico

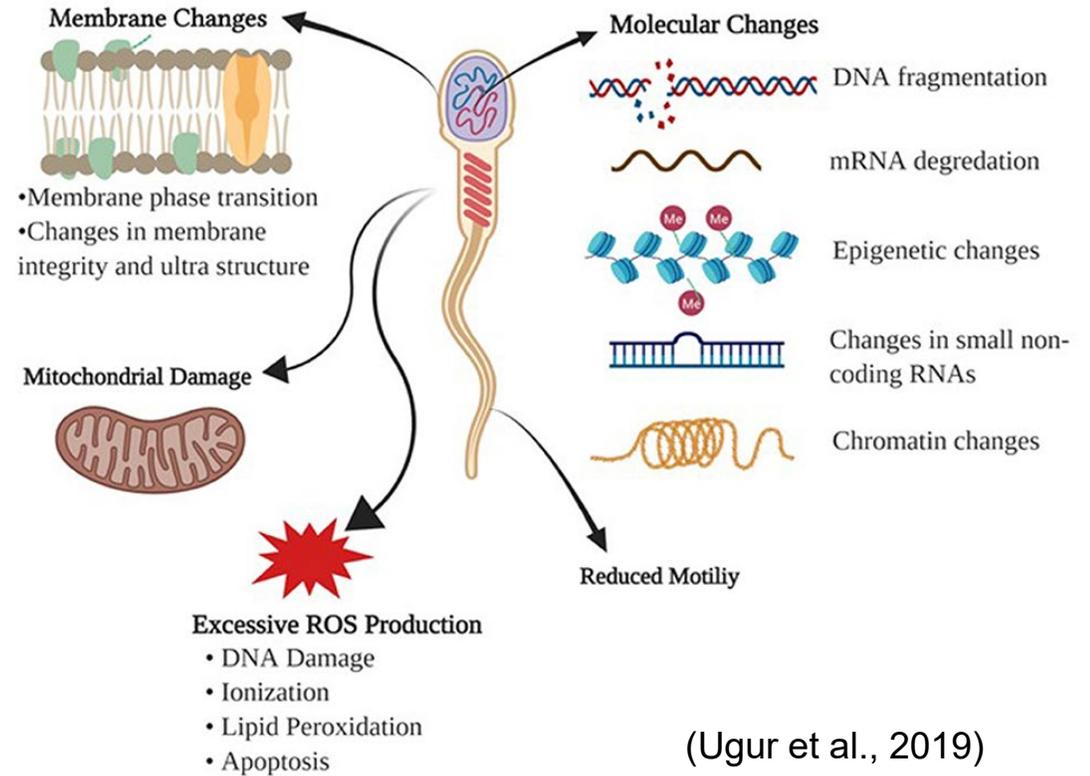
Crioconservación del semen bovino

Procesos físicos ocurridos durante el proceso de congelamiento (Grötter et al., 2019).





“Hipótesis de dos factores” → daño celular ocurre mediante dos mecanismos distintos: la producción de hielo y la deshidratación celular.



(Ugur et al., 2019)

- Congelación lenta en tasas de 1-2°C/min en diferentes etapas hasta llegar a -196°C.
- T de enfriamiento entre 4°C y 5°C → mantiene la calidad del semen y reduce el metabolismo celular.

Metodología

Recolección y evaluación seminal

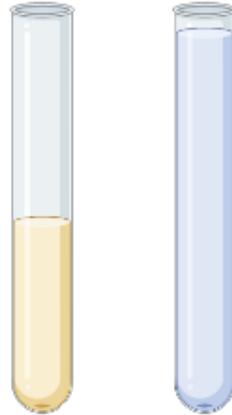


Recolección con vagina artificial

- ★ El semen se colocó en baño María a 30°C.

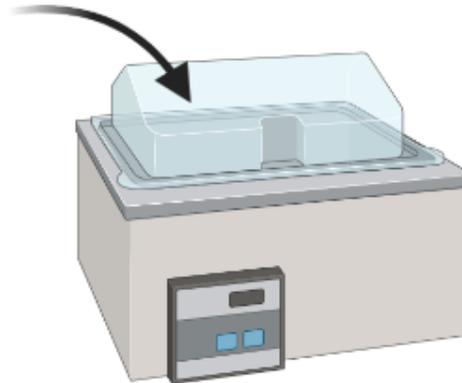
Preparación de la dilución

razón 1:2



Diluyente
Optixcell

Agua
Bidestilada

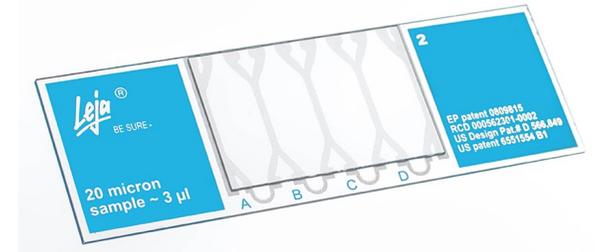


Baño María
32°C

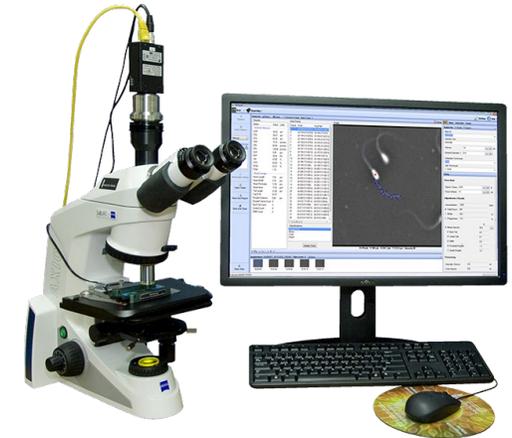
- ★ Se activó la predilución durante 15 min.
- ★ El semen fresco se diluyó a razón 1:1 con la solución prediluida.

Análisis de motilidad progresiva

- ★ Alícuota de 1mL de la muestra diluida e incubación a 37°C.
- ★ Visualización con 5 µl.



Análisis de la motilidad progresiva

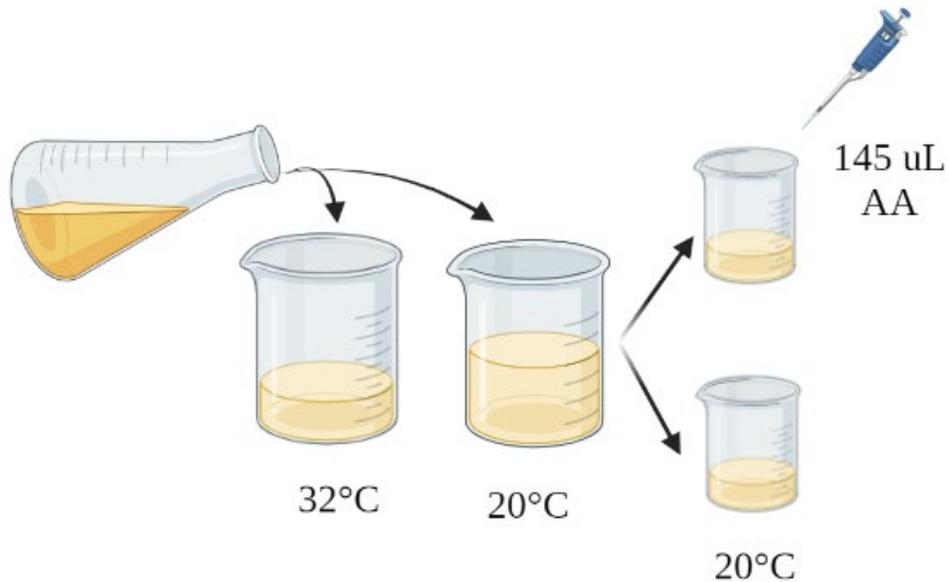


ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Congelamiento del semen bovino

- ★ Cálculo para pajuelas de 30×10^6 spz/mL
- ★ Adición del diluyente en 3 partes

$$\text{dosis} = C \text{ total} * \frac{1 \text{ dosis de } 0.50 \text{ ml}}{30 \text{ millones de spz}}$$



Curva estándar

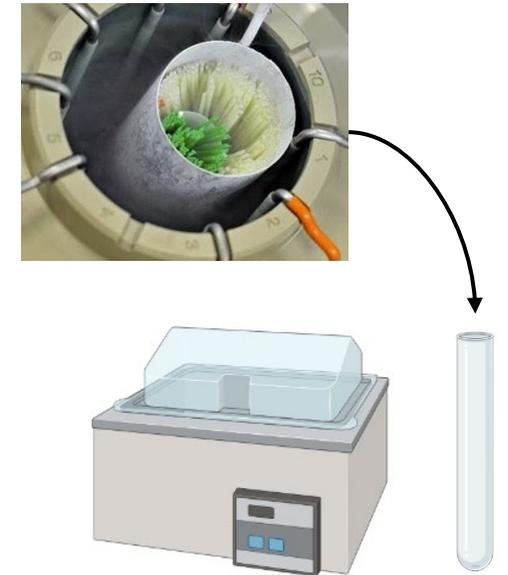
Tiempo de equilibrio 3 horas.

Velocidad	Rango
1°C/min	20°C a 4°C
5°C/min	4°C a -10°C
40°C/min	-10°C a -100°C
20°C/min	-100°C a -140°C



Descongelamiento de semen bovino

Se descongelaron en baño María a 37°C durante 30 s



Resultados y discusión

Análisis macroscópico del semen fresco de toros.

Toros	Volumen (mL)	pH	Temperatura	Aspecto	Concentración (millones/mL)
Toro 1	4,7	6,5	31,6	Amarillo lechoso	1 080
Toro 2	5,5	6,49	31,8	Amarillo claro	312*



Toro 1



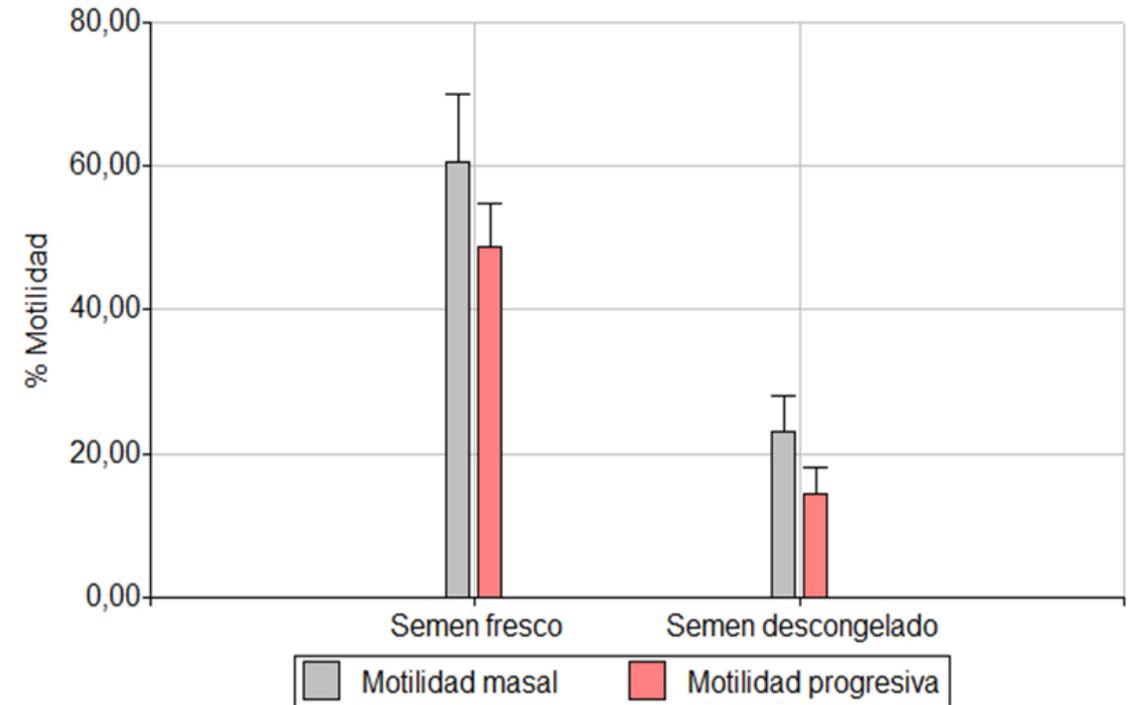
Toro 2



Resultados y discusión

TORO 1

Efecto	Motilidad total	Motilidad progresiva
Fresco	60,65 ± 9,39 ^a	48,73 ± 6,10 ^a
Descongelado	23,12 ± 4,82 ^b	14,36 ± 3,64 ^b
p-valor	< 0,0001	< 0,001
Primera curva	39,55 ± 18,70	30,76 ± 17,34
Segunda curva	44,22 ± 18,73	32,33 ± 20,58
p-valor	0,1247	0,5043
Sin antioxidante	37,40 ± 20,34	28,84 ± 18,92
Con antioxidante	46,36 ± 21,37	34,24 ± 18,73
p-valor	0,0111	0,0430



Factores de estrés

Formación de hielo intracelular, efecto solución y modificaciones osmóticas causan cambios estructurales en la organización, fluidez, permeabilidad y composición lipídica de la membrana espermática (Upadhyay y otros, 2021).



Resultados y discusión

Efecto	Motilidad total	Motilidad progresiva
Fresco	82,90	74,84
Descongelado	20,63	14,05
p-valor bilateral	0,0004*	0,0004*
Primera curva	48,16	40,80
Segunda curva	55,37	48,10
p-valor bilateral	0,1078	0,0734
Sin antioxidante	51,93	44,55
Con antioxidante	44,34	44,34
p-valor bilateral	0,1450	0,9595

TORO 2

La adición de antioxidantes inhiben la formación de ROS y la peroxidación lipídica (Bustani & Baiee, 2021; Ugur y otros, 2019), no hubo diferencias → cantidad insuficiente.





VCL: Velocidad curvilínea
 VSL: Velocidad en línea recta
 VAP: Velocidad media de la trayectoria.

Quando la trayectoria de la cabeza del espermatozoide es muy regular y lineal, con muy poco movimiento lateral, entonces la VAP es casi igual a la VSL (Mortimer, 2000).



Conclusiones

- ★ La motilidad progresiva fue del 60% en el Toro 2 en comparación con el Toro 1, indicando diferencias entre los reproductores. Además, se mostró un efecto generado por la curva de congelamiento sobre la motilidad progresiva del semen fresco.
- ★ Una tasa de enfriamiento inicial entre 0,5°C/min y 1°C/min presentan resultados significativamente iguales. La adición de antioxidante 4 µM no mostró diferencia significativa con respecto al control, por ende, la cantidad pudo no haber sido la necesaria.
- ★ Finalmente, se encontró correlación entre el parámetro de motilidad progresiva y el índice de linealidad tanto para los factores del estado de la muestra, curva de congelamiento y adición de antioxidante.



Recomendaciones

- ★ Se recomienda realizar el estudio con una cantidad mayor de sementales para abarcar mayor número de muestras y robustecer el análisis estadístico.
- ★ Además, para evaluar el efecto del antioxidante se sugiere comparar distintas concentraciones para encontrar la concentración adecuada.
- ★ Es recomendable el uso de un refrigerador a 4°C para almacenar las muestras durante el tiempo de equilibrio requerido y posteriormente proceder al congelamiento en el equipo automatizado.



¡Gracias!



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA