

## Manipulación del Semen para máxima fertilidad

Humberto Rivera, MVZ, MS  
Accelerated Genetics, USA  
TriState Ltda

El manejo reproductivo es una tarea dinámica que requiere trabajo diario, bien hecho y consistente. Hay muchos factores fisiológicos y de manejo deben estar en su sitio para obtener el resultado esperado, y es nuestra labor de ganadero, consultor o veterinario ejercer un monitoreo permanente a todos los factores que estén a nuestro alcance para maximizar el desempeño. La mayor parte de los factores que afectan la fertilidad a nivel del hato dependen exclusivamente del manejo (instalaciones, alimentación, factores climáticos, estado nutricional, técnica de inseminación, manipulación del semen, fertilidad del semen, etc.) lo que se convierte en una buena noticia para los buenos administradores en lechería.

El efecto del procedimiento de inseminación artificial la fertilidad del hato puede tener grandes variaciones dependiendo de la calidad del semen usado y la habilidad del técnico de inseminación artificial para realizar bien su tarea. Como ganadero, su punto de partida debe ser comprar únicamente semen de calidad certificada procesado en laboratorios de excelente reputación. Es así como el semen procedente de las empresas de inseminación de los Estados Unidos tiene que ser aprobado por una serie de protocolos establecidos por CSS (*Certified Semen Services*) que garanticen su máxima calidad en espera de una óptima fertilidad.



Solo por curiosidad, la próxima vez que use una pajilla de semen importado de Estados Unidos lea el logo CSS impreso en la pajilla (como el de la foto). Eso significa que el semen que acaba de usar está garantizado en la correcta identificación del semen, certificación de salud, y certificación de protocolos de manejo y colección de semen en el centro de inseminación de donde proviene. Esta certificación ha reducido notoriamente la variación de la influencia del semen certificado en la fertilidad del ganado lechero.

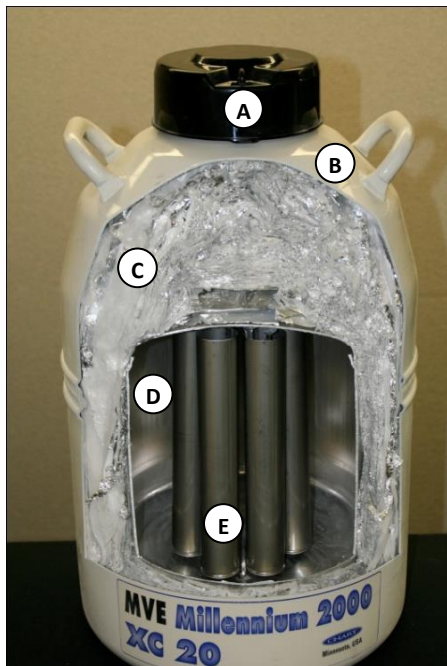
Otro aspecto es la habilidad del técnico inseminador. Muchos técnicos aprendieron la técnica hace 20 años o más, y continúan hoy su labor lo que es muy meritorio. El punto a considerar es el re entrenamiento como práctica de manejo rutinaria, ya que en la inseminación artificial se aprenden malos hábitos fácilmente debido a que es un trabajo que no necesita supervisión, con lo cual se crean “atajos” de manera inconsciente para ahorrar tiempo. Estos “atajos” van en detrimento de la supervivencia del semen y la fertilidad. En grandes hatos lecheros y empresas de inseminación que yo visito en otros países, el re entrenamiento anual de los técnicos de inseminación es una práctica rutinaria. En nuestro medio, esta práctica puede ser considerada como ofensiva, por el simple hecho de que nunca lo hemos hecho antes, por lo cual el mensaje que entiende su técnico es que usted esta poniendo su habilidad y conocimientos en tela de juicio.

Existen varias importantes recomendaciones en la manipulación del semen que se mencionan más adelante. Sin embargo, la mayoría de ellas se refieren a la prevención de choque térmico o choque de

frío, por lo que hay un par de principios básicos que cualquier técnico debe mantener siempre en su mente. Una de las principales metas del técnico es minimizar las fluctuaciones de temperatura a las que el semen es sometido y evitar la exposición a la luz directa del sol:

1. El semen está a  $-196^{\circ}\text{C}$  en su tanque de nitrógeno líquido. La temperatura del semen debe mantenerse en este nivel y solo debe subir cuando se va a descongelar la pajilla. Con esta medida se protege el semen que hay en el tanque.
2. Cuando se decide descongelar una pajilla, por ningún motivo se debe permitir el descenso de su temperatura desde el momento en que se retira del tanque. La temperatura del semen siempre debe ir en ascenso hasta llegar al útero, es decir de los  $-196^{\circ}\text{C}$  en el tanque, a los  $35\text{-}37^{\circ}\text{C}$  del baño de agua, y de allí a los  $39.5^{\circ}\text{C}$  de la vaca, sin permitir el descenso de un solo grado entre estos pasos. Este es el principal reto.

Las recomendaciones específicas detalladas a continuación van orientadas a proteger su inversión y a lograr la mejor fertilidad posible. Muchas de ellas, pero no todas, están enfocadas en la prevención del choque térmico.



- A Tapa externa (cubierta del tapón)
- B Coraza externa
- C Compartimiento de vacío (aislamiento)
- D Interior del tanque
- E Canastillas

**Monitoree el nivel de nitrógeno y calidad del tanque:** El nivel de evaporación del nitrógeno líquido está dictado por el estado de deterioro del tanque y por la frecuencia con que se usa. Esto a su vez nos sirve de referencia para la frecuencia en la medición del nitrógeno líquido. Como regla general, para un tanque en buen estado que se usa a diario, debe medirse el nivel de nitrógeno una vez por semana, llevando una hoja de registro de cada medición, para así determinar el nivel de evaporación y detectar daños internos del tanque con tiempo (tasa de evaporación). Tener un tanque en regular estado no es recomendable bajo ninguna circunstancia. La recomendación es mantener el nivel de nitrógeno por encima de 5 pulgadas (13 cm). Niveles inferiores indican que la temperatura interna del tanque es mayor a  $-196^{\circ}\text{C}$ , lo que pone en peligro la viabilidad del semen. Por debajo de 2 pulgadas (5 cm) hay daño inminente o muerte del semen. De otra parte, en caso de formarse escarcha en la coraza externa del tanque, significa que se ha perdido el vacío de aislamiento interno y el nitrógeno líquido ha alcanzado dicho compartimiento (ver foto). Bajo estas condiciones, la evaporación del nitrógeno será muy acelerada, y tendrá solo un par de horas, o tal vez minutos para transferir el semen a otro tanque seguro.

**Preparación de la vaca:** Tenga la vaca debidamente sujeta antes de preparar la pistola para evitar pérdida de tiempo con la pistola ensamblada, así como el riesgo de exposición a variaciones de temperatura del semen. Cualquier sistema de inmovilización es válido mientras no atente contra el

bienestar y buen trato a los animales. Puede usar trampas en los comederos, un brete de inseminación, o un cubículo en los casos de instalaciones de confinamiento. Algunas personas acostumbran descongelar la pajilla en un termo portátil con agua a 35°C -37°C, y usarlo como medio de transporte para llevar el semen hasta el potrero con la idea de no traer la vaca al brete.

**Retirando una pajilla del tanque:** Use pinzas para recuperar las pajillas del tanque y llevarlas a la unidad de descongelamiento. Muchos piensan que al usar los dedos se está induciendo una descongelación más rápida en un extremo de la pajilla, lo que va en detrimento de la calidad del semen – lo cual es cierto. Sin embargo el principal daño de esta práctica es que se está induciendo un descongelamiento parcial de las pajillas vecinas que Ud. alcanza a tocar con los dedos por uno o dos segundos, y que regresan al interior del tanque. Ahora, considere la sumatoria de fluctuaciones de temperatura a las que esas pajillas son expuestas, ya que este no es un evento aislado si se trata de una práctica de manipulación rutinaria.

Al tratar buscar la pajilla con que desea inseminar, no levante la canastilla por encima de la línea de congelamiento (o línea de escarcha). Esta es una regla de oro, ya que por encima de la línea de escarcha comienza el descongelamiento lento (-100 a -130°C), por lo tanto, el semen expuesto a esta práctica y sumergido nuevamente en el nitrógeno líquido puede sufrir grave deterioro por descongelado y re-congelado sucesivos. La recomendación es levantar la canastilla hasta la línea de escarcha únicamente y un máximo de 10 segundos. Si no alcanzó a recuperar la pajilla en ese tiempo, sumerja la canastilla nuevamente en el nitrógeno líquido, espere unos 5 segundos y vuélvalo a intentar.

**La unidad de descongelamiento:** Así se trate de una unidad de descongelamiento eléctrica con luz guía para la temperatura (rojo-verde) esta debe ser calibrada periódicamente contra uno o dos termómetros testigo. Tenga en cuenta que estas unidades eléctricas pueden advertir sobre las temperaturas bajas (menos de 35°C), pero no detectan las temperaturas que sobrepasan el límite superior por encima de 37°C. Esto es muy grave en los climas cálidos o veranos intensos, ya que la temperatura ambiente puede estar por encima de la temperatura máxima permitida para la supervivencia del semen. La contaminación del agua también juega un papel importante y esta debe ser cambiada a diario por agua limpia y fresca. Cuando retire una pajilla del tanque de nitrógeno, transfírala inmediatamente a la unidad de descongelamiento. Este procedimiento no puede durar más de uno o dos segundos para evitar fluctuaciones de temperatura.



En algunos casos, una pajilla puede explotar al contacto con el agua tibia de la unidad de descongelamiento. Esto sucede porque en el proceso de sellado en el laboratorio, quedo una pequeña fisura por donde entro una gotita de nitrógeno líquido al interior de la pajilla. Una de las características físicas del nitrógeno líquido importantes en la manipulación del semen es su altísima tasa de expansión (1:694) al someterse a evaporación súbita. Por tanto, al contacto con al agua a 37°C, hay una violenta expansión de esa gotita produciendo la explosión. Esto

puede suceder ocasionalmente, y con frecuencia está relacionado con la calidad del equipo usado en el sellado de las pajillas. La alta tasa de expansión del nitrógeno líquido es la misma razón por la que no se puede sellar un tanque de nitrógeno en forma hermética, pues su característica de lenta pero permanente evaporación lo convertiría en una bomba de tiempo. Existen varios accidentes reportados en este sentido, por lo cual la tapa del termo debe ser siempre de material poroso que permita su evaporación.

Permita por lo menos 45 segundos en la unidad de descongelamiento para garantizar un descongelamiento total y homogéneo. La meta del proceso de descongelamiento rápido es que el semen este muy poco tiempo en temperaturas entre  $-50^{\circ}\text{C}$  y  $+20^{\circ}\text{C}$ , en especial en rango entre  $0^{\circ}\text{C}$  y  $+5^{\circ}\text{C}$ . En estos rangos de temperatura, la formación de afilados cristales en el diluyente puede tener efectos fatales al inducir la ruptura de la membrana espermática. Existen investigaciones que han evaluado la temperatura del agua necesaria y el tiempo de exposición a esta necesario para que el semen alcance una temperatura interna superior a  $20^{\circ}\text{C}$ , minimizando al tiempo el período de exposición a esos rangos nocivos. Tales investigaciones concluyen que el semen se debe descongelar en agua a  $35^{\circ}\text{C}$  - $37^{\circ}\text{C}$  por un período no inferior a 45 segundos. Nunca haga descongelamiento en el bolsillo, en la axila, o al aire; a menos que esa sea la recomendación directa del fabricante. No prepare la pistola a sol abierto y no exponga el semen a la luz ultravioleta. Si después de ensamblar la pistola tiene que caminar a sol abierto, proteja la pistola de la luz directa del sol con papel toalla o con su ropa.

**El ensamblado de la pistola y deposición del semen:** Ahora, recuerde que su principal reto en manipulación del semen es evitar cualquier caída en la temperatura del semen. Utilice todos los medios que estén a su alcance para proteger el semen del frío ambiental. Para esto, después de haber pasado rápidamente la pajilla del tanque de nitrógeno a la unidad de descongelamiento, precaliente la pistola frotándola con un paño o toalla de papel, y colóquela en el interior de su camisa a su temperatura corporal de modo que cuando la pajilla entre en contacto con la pistola no exista choque térmico. En los climas cálidos proteja su equipo de IA de la luz directa del sol, pues el choque térmico también se presenta por temperaturas muy altas. Seque muy bien la pajilla antes de ensamblar la pistola – el agua mata el semen!! Asegúrese de que hay un sellado completo entre la pajilla y el adaptador plástico de la funda para garantizar que no habrá fugas ni contraflujo de semen al momento de la inseminación. Es recomendable verificar el flujo del semen al momento del ensamblado de la pistola para garantizar que no hay obstrucciones y que la pistola está bien ensamblada. Recuerde que todo este procedimiento debe ser muy rápido para evitar caídas en la temperatura del semen. Ahora retorne la pistola, ya cargada con el semen, al interior de su camisa para darle protección mientras llega a la vaca. En muchas lecherías de los EEUU se utiliza un calentador de pistolas, el cual garantiza una temperatura uniforme para las pistolas cargadas mientras se llega donde están las vacas. Esta herramienta es especialmente útil en los climas fríos y en los protocolos de inseminación a tiempo fijo (inseminaciones múltiples). Al alcanzar la vaca, realice una lenta deposición del total del semen en la pajilla (3-5 segundos) una vez se alcanza el “blanco” en el cuerpo del útero. Algunos técnicos de inseminación, con la intención de hacerlo rápido, no empujan el embolo hacia adelante, sino que involuntariamente halan la pistola hacia atrás, con lo cual se pierde la ubicación de la pistola y el semen queda depositado en el sitio errado (en el cerviz).

Evite la inseminación intracornual. Hay resultados muy controversiales en los resultados de esta práctica, y se ha reportado gran variación de una finca a otra, así como de un técnico a otro. En general, no hay evidencia científica de que haya mejores tasas de concepción con esta técnica, pero si existe el riesgo de inducir sangrado del endometrio o aun ruptura del útero si no practica una manipulación delicada. Recuerde que la sangre, como el agua, es letal para el semen. Además, investigaciones en Virginia Tech evaluaron la fertilidad en vacas inseminadas en el cuerno ipsilateral o en el cuerno contralateral al ovario que contenía el folículo preovulatorio. Lo impresionante no es solamente que no hubo diferencias en la concepción, sino que evidenciaron que el semen depositado en el cuerno contralateral fue capaz de transportarse de regreso al útero, y retomar el camino del cuerno ipsilateral a la ovulación. Por supuesto, este mecanismo no es responsabilidad absoluta del semen, y los mecanismos de transporte espermático del útero deben llevar la mayor responsabilidad. Antes que pensar en inseminación intracornual. Concéntrese mas en no depositar el semen en el cerviz, los cual es un error mucho más común de lo que se piensa. Investigaciones han reportado un efecto de 10% en la tasa de concepción cuando se deposita a el semen en el cerviz.

#### **Practicas controversiales en inseminación:**

Llevar el semen en la unidad de descongelamiento al potrero: En teoría, este sistema debe funcionar, pero en la práctica es muy difícil que un termo portátil pueda mantener la temperatura constante por más de 10 minutos con lo cual se afecta la calidad del semen. Esto se agrava aún más cuando se descongelan varias pajillas de manera simultánea. De usar esta práctica, asegúrese de tener un termo de muy buena calidad y chequee la temperatura del agua al iniciar el ensamblaje de la pistola para determinar si el termo está manteniendo la temperatura adecuadamente. En lugar de eso, la mayoría de establos en confinamiento de tamaño apreciable, llevan el equipo de inseminación completo en un carro de golf - o similar - a donde están las vacas, de modo que el proceso completo de preparación de la pistola se hace muy cerca de la vaca, reduciendo es tiempo de transporte del semen descongelado.

Partir pajillas para dos vacas en celo: Aunque suene bien en el papel, tiene una difícil aplicación. Esto implica que las vacas hayan iniciado celo al tiempo para lleguen al momento apropiado para la inseminación al tiempo. También requiere un técnico experimentado que no tome mayor tiempo en cada vaca, que pueda calcular bien la mitad de cada pajilla para cada vaca, y que las vacas estén juntas (una al lado de la otra). Esta práctica está totalmente prohibida en el uso de semen sexado. Es muy importante considerar que esta práctica pretende ahorrar dinero en el lugar equivocado por varias razones:

- Primero, el principal factor que limita el desempeño reproductivo en ganado lechero es la detección de celos antes que la fertilidad del semen.
- Segundo, hay un demostrado efecto negativo en fertilidad (5%-10% menor tasa de concepción) para las lecherías que lo usan como práctica rutinaria.
- Los costos de un programa de inseminación en una finca lechera en EEUU son solamente el 3% del total de los costos. La intención de reducir costos tiene definitivamente mayor impacto en otras áreas de más peso.

- Muchos pensarán: “Entonces en programas de IATF no hay razón para no hacerlo, pues todas las vacas se inseminan al tiempo”. Todo lo contrario. Después de la gran inversión en un protocolo hormonal para sincronización, no hay por qué arriesgarse a tirar todo el trabajo por la borda por ahorrarse unos pocos pesos.

*Descongelar varias pajillas simultáneamente:* No descongele varias pajillas simultáneamente si no es necesario. Si Ud. es un inseminador con experiencia y sigue las recomendaciones de manipulación del semen, debe descongelar solo las pajillas que puede depositar en el blanco en los 10 minutos siguientes a la preparación de las pistolas. Si Ud. tarda más de eso, debe perfeccionar su técnica antes de inseminar varias vacas de manera simultánea. Dalton et al. (2004) encontraron un estudio en 1.025 vacas, que los técnicos profesionales pudieron depositar 4 pajillas en 7.5 minutos en tanto que los técnicos de las fincas tomaron cerca de 11 minutos para las mismas 4 pajillas. Las concepciones fueron similares entre los grupos, pero fueron significativamente superiores para los técnicos profesionales (45%) frente a los técnicos de las fincas (27%). De otra parte, cuando se descongelan múltiples pajillas, estas se pueden pegar durante el descongelamiento y romperse al tratar de separarlas después de descongeladas. Por último, el descongelamiento de más de 6 pajillas puede disminuir la temperatura del agua al actuar como refrigerante.

Los programas de inseminación demandan alta responsabilidad y compromiso del equipo de manejo en la lechería, pero son altamente gratificantes cuando se ven los resultados en el progreso genético. No trate de hacer atajos ni de inventarse cosas nuevas en una tecnología que esta inventada y ha sido exitosa por más de 70 años. Evite el choque térmico extremando las medidas de protección para el semen. Sea mucho más cuidadoso cuando se trate de semen sexado. Haga de los cursos de reentrenamiento en inseminación artificial una práctica rutinaria para sus técnicos de inseminación.