

Efecto de dos dilutores y tiempos de refrigeración sobre la motilidad individual de semen refrigerado de caprinos.

Effect of two dilutors and times of refrigeration on sperm progressive motility of refrigerated goat semen.

Palomino, J.M.^{1*}; Cervantes, M.²; Rodríguez, A.¹; Cisneros, F.¹, Huanca, W.²

¹ Escuela de Formación Profesional de Medicina Veterinaria, UNSCH, Ayacucho-Perú. Email: leunamvet@yahoo.com

² Laboratorio de Reproducción Animal. Fac de Medicina Veterinaria, UNMSM, Lima-Perú.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de dos dilutores y tiempos de refrigeración sobre la motilidad individual del semen refrigerado de caprinos. Se colectaron 9 eyaculados por vagina artificial de caprinos machos criollos cruce Anglo Nubian, adultos. El semen se mantuvo a 30°C desde su colección y durante el proceso de dilución. Cada eyaculado se dividió en dos partes para ser diluido con el dilutor A (leche descremada) y B (tris-citrato-yema de huevo). El semen diluido fue enfriado en forma gradual a una tasa aproximada de 2 grados/minuto hasta temperatura de refrigeración (5°C). Temperatura en la que se mantuvo hasta las 96 horas. Los parámetros de evaluación fueron motilidad progresiva (%) y porcentaje de espermatozoides vivos a las 0, 12, 24, 48, 72 y 96 horas. Los resultados señalan una motilidad progresiva de 68.3±2.5% para el dilutor B y de 60.6±1.7% para el dilutor A, a las 96 horas. Si bien se obtuvo mejor respuesta con el dilutor B (p<0.05), con ambos dilutores se logró porcentajes alentadores; pero se recomienda evaluar la viabilidad in vivo del semen.

Palabras clave: Caprinos, semen refrigerado, dilutores, leche descremada, tris-citrato-yema de huevo.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of two dilutors and times of refrigeration on individual motility of refrigerated goat semen. Nine ejaculated were collected by artificial vagina of adult native crossing Anglo Nubian males. The semen was kept at 30°C since its collection and during process of dilution. Each ejaculated was divided in two parts to be diluted with dilutors A (skim milk) and B (tris-citrate-egg yolk). Diluted semen was cooled in a progressive way to an approximate rate of 2 grades/minute until temperature of refrigeration (5°C). Temperature in which was stored for 96 hours. Parameters of evaluation were progressive motility (%) and percentage of live spermatozoids at 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hours. Results indicate a progressive motility of 68.3±2.5% for dilutor B and 60.6±1.7% for dilutor A. Even though it was a better answer with dilutor B (p<0.05), both dilutors achieved encouraging percentages; nevertheless it is recommended to evaluate alive viability of semen.

Key words: Goat, refrigerated semen, dilutors, skim milk, tris-citrate-egg yolk.

INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial es una tecnología reproductiva comúnmente usadas a lo largo del mundo, debido a su simplicidad y a la relación costo beneficio, cuando se emplean machos caprinos probados (Baldassarre and Karatzas, 2004). Para la Inseminación artificial el semen de un macho mejorado puede ser utilizado en forma fresca, refrigerada o congelada. Sin embargo, el semen en forma fresca (mantenido a 30°C sea diluido o no) debe ser empleado inmediatamente después de su colección, ya que la motilidad y viabilidad de los espermatozoides bajo esas condiciones se reduce drásticamente en corto tiempo. Mientras, semen conservado en refrigeración puede mantenerse por más de 48 horas (Evans y Maxwell, 1990), brindando mayor flexibilidad de su uso en programas de IA, por la posibilidad de trasladar el semen desde centros de mejoramiento genético o desde explotaciones con machos genéticamente superiores hacia rebaños criollos locales que se encuentren algo alejados de ellos (Martínez et al, 2006).

La refrigeración del semen a 5° C reduce el metabolismo de los espermatozoides con el subsiguiente ahorro de reservas energéticas, siempre y cuando se proteja a las células contra las bajas temperaturas mediante la adición de compuestos orgánicos como la yema de huevo o la leche descremada, que aumentan la resistencia

de la membrana a los cambios de permeabilidad e impiden que los espermatozoides acumulen calcio al alterarse el sistema de intercambio de la membrana.

Estudios refieren que semen diluido a base de yema de huevo, muestran variabilidad y pobres resultados de fertilidad en las cabras inseminadas, atribuyendo estos resultados a las altas concentraciones de lisolecitinas las que afectarían los espermatozoides (Corteel, 1981). Mientras que los resultados son relativamente estables empleando semen diluido (mantenido a 6°C) con leche descremada de vaca.

La posibilidad de obtener resultados satisfactorios con dilutores simples de fácil acceso como la leche descremada ultrapasteurizada comercial, contribuiría bajo condiciones de crianza extensiva en la zona de Ayacucho, a disponer de una alternativa factible de ser difundida entre los productores de la zona. Por lo tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de un dilutor a base de leche descremada comercial y un dilutor a base de tris-citrato-yema de huevo a diferentes tiempos de refrigeración sobre la motilidad individual del semen refrigerado de caprinos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en las instalaciones de la Escuela de Formación Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en Ayacucho. Se emplearon 9 eyaculados procedentes de caprinos machos adultos (criollos cruce Anglo nubian) mediante colección con vagina artificial. La temperatura interna de la vagina artificial se mantuvo entre 41°C a 43°C; y el tubo colector graduado se mantuvo a 37°C. Realizada la colección del semen se evaluó volumen, color, concentración espermática, motilidad masal, motilidad progresiva. Cada muestra fue dividida en dos partes iguales para ser diluidas tanto con el dilutor A (leche descremada) y con el dilutor B (citrato-yema de huevo) a 35°C; la dilución se realizó en una proporción de 1:4 de semen y dilutor.

Una vez que el semen diluido alcanzó los 5°C, los parámetros evaluados a las 0, 12, 24, 48, 72 y 96 horas fueron porcentaje de motilidad progresiva y porcentaje de espermatozoides vivos. Para evaluar la motilidad progresiva se colocó una gota del semen diluido en una lámina porta objeto precalentada a 37°C, se colocó el cubre objeto, y se realizó la observación de varios campos al azar en el microscopio a 40X. Para obtener el porcentaje de espermatozoides vivos, se empleó la Tinción 15, basándose la evaluación en la coloración o no del espermatozoide, considerándose como vivos los no coloreados.

El dilutor A (leche descremada +antibiótico) y el dilutor B (Tris-citrato-yema de huevo+antibiótico) según lo reportado por Herman et al. (1994). Con la variación que para el dilutor A, se empleó leche descremada ultrapasteurizada comercial.

Los resultados fueron analizados por la prueba t-student, para determinar diferencia entre los tratamientos respecto a las variables motilidad progresiva y porcentaje de espermatozoides vivos en los diferentes tiempos de evaluación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados sobre el efecto de los tratamientos sobre la motilidad individual de semen refrigerado de caprinos así como sobre el porcentaje de espermatozoides vivos se aprecia en el Cuadro 1. Donde mejores resultados se obtuvieron con el dilutor B (tris-citrato-yema de huevo), en comparación con el dilutor A (leche descremada).

Cuadro 1. Porcentaje de Motilidad y de espermatozoides vivos

Tiempo (horas)	Motilidad		Porcentaje espermatozoides Vivos	
	Dilución A (%)	Dilución B (%)	Dilución A (%)	Dilución B (%)
0	82.2±6.2	87.2±4.4	91.7±2.5	93.9±2.2
12	75.0±4.3**	82.2±5.7**	85.6±3.0**	88.3±2.5**
24	70.6±3.0**	77.8±6.2**	81.7±5.0	85.0±3.5
48	67.2±2.6**	75.6±5.8**	80.6±3.9**	83.9±2.2**
72	61.7±2.5**	71.1±3.3**	75.6±3.9**	80.0±3.5**
96	60.6±1.7**	68.3±2.5**	71.1±3.3**	77.2±3.6**

Dilución A: semen caprino con leche descremada; Dilución B: semen caprino con tris-citrato-yema de huevo

** : Diferencia significativa (p<0.05) entre filas.

Dilutores de semen a base de Yema de huevo y leche descremada han demostrado tener efectos protectivos para los espermatozoides contra el shock por frío (Waston, 1981).

Evans y Maxwell (1990) manifiestan que el empleo de leche de vaca descremada y esterilizada como dilutor de semen, no siempre da resultados uniformes por la variabilidad en su composición. Palomino et al (2001) reportó resultados inferiores a los del presente trabajo para las muestras diluidas a base de leche descremada; pero menciona que estaba en combinación con yema de huevo y que previamente a la dilución la leche fue sometida a una temperatura de 92- 95°C durante 10 minutos, y cuando alcanzó temperatura ambiente se procedió a filtrar para eliminar la espuma y las natas. Sin embargo, Carmona (2003) refiere que cuando se emplea leche fresca descremada para la preservación de semen, previamente se requería exponerla a altas temperaturas para inactivar sustancias tóxicas para los espermatozoides presentes en la leche, pero que dicho procedimiento no requeriría ser realizado cuando se usa leche descremada ultrapasteurizada.

La acción protectora frente al shock de frío de la yema de huevo es ampliamente presumida ser debido a las lipoproteínas de baja densidad presentes en su composición (Moussa et al., 2002), que se ha demostrado interactúan con la membrana plasmática de los espermatozoides en el proceso de enfriamiento. Por otro lado, estudios refieren que la yema de huevo contiene componentes que tienen efecto perjudicial sobre la viabilidad de los espermatozoides.

En el presente trabajo los resultados obtenidos utilizando tris-citrato-yema de huevo fueron superiores a los obtenidos con el diluyente con leche descremada ultrapasteurizada, pero mostrando en ambos casos resultados alentadores. Sin embargo, es necesario realizar más trabajos donde se aumente el tamaño de la muestra, se pruebe la aparente bondad de la utilización de la leche descremada ultrapasteurizada comercial, por ser de utilidad práctica, que podría convertirse en un diluyente de amplia utilización. Y así también realizar evaluaciones de la viabilidad in vivo del semen diluido.

CONCLUSIONES

Con los resultados del presente estudio podemos mencionar que el dilutor B (tris-citrato-yema de huevo) fue mejor que el dilutor A (leche descremada) para preservar el semen caprino refrigerado hasta las 96 horas.

LITERATURA CITADA

- Baldassarre H. and Karatzas C. N. 2004. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Anim Reprod Scie.* Vol 82-83:255-266
- Carmona F., I. 2003. Utilización de la leche descremada ultrapasteurizada (UHT) para la conservación del semen equino refrigerado. *Rev Col Cienc Pec.* Vol 16:3
- Corteel, J.M. 1981. In: *Goat Production*. Ed. by C. Gall. Academic Press pp. 169–189.
- Evans G. y Maxwell M. 1990. Inseminación artificial en ovejas y cabras. Editorial Acribia. España. pag 119-122.
- Herman H.; Mitchell J.; Doak G. 1994. *The artificial insemination and embryo transfer of dairy and beef cattle*. Interstate Publisher. INC. 8th edition.
- Martínez R.; Hernández J.; Hernández H.; Michel A. y Valencia J. 2006. Inseminación artificial intrauterina en cabras criollas con semen refrigerado. *Mexico. Agrociencia.* Vol. 40 (1):71-76.
- Moussa M.; Marinet V.; Trimeche A.; Tainturier D.; Anton M. 2002. Low density lipoproteins extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen.
- Palomino, L.; Camacho J.; Huanca W.; Falcón N. 2001. Conservación de semen caprino en los dilutores citrato-yema y leche-descremada yema. *Rev Inv Vet Perú.* Vol. 12 (1).
- Watson PE. 1981. The roles of lipid and protein in the protection of ram spermatozoa at 5°C by egg yolk lipoprotein. *J Reprod Fertil.* 62:483-492.