

Artículo original:

EVALUACIÓN DE TRES CONCENTRACIONES DE DIMETIL SULFOXIDO EN LA CRIOPRESERVACION DE SEMEN DE PAVOS CRIOLLOS (*Meleagris gallopavo*)

Evaluation of three levels of dimethyl sulfoxide in the cryopreservation of Creole Turkey (*Meleagris gallopavo*) semen

Anaya, S. (1*); E. Alvarado(1);
E. Huamán(2); S. León(2); R.M. Silva(2);
F. Peña(3)

(1) Universidad Nacional Agraria la Molina,
Lima, Perú

(2) CIETE-Ministerio de Agricultura -
Universidad Nacional Agraria La Molina,
Lima, Perú.

(3) Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú

* Email: sophyanaya@gmail.com

Palabras clave:

Pavos, semen, criopreservación, DMSO

INTRODUCCIÓN

La crianza de pavos (*Meleagris gallopavo*) es de gran importancia comercial por su demanda y preferencia dentro de la jerarquía de la industria avícola, ya que es considerado como un ave de fechas festivas. La selección genética de pavos de ancho pecho ha producido un animal que físicamente es incapaz de cubrir por monta natural, por lo cual se utiliza la inseminación artificial exclusivamente para producir huevos fértiles. Sin embargo, esta técnica requiere de un buen manejo y calidad de semen para lograr la supervivencia espermática luego de un proceso de conservación y congelación. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del crioprotector dimetil sulfóxido (DMSO) 4%, 6% y 9% en el dilutor Belstville Poultry Semen Extender modificado (BPSEm) sobre las características seminales del semen refrigerado y post congelado de pavos criollos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en la Granja de Aves en la Unidad Experimental de Aves de la Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina y en los Laboratorios del Centro de Investigación y Enseñanza en Transferencia de Embriones (CIETE) durante los meses de septiembre a diciembre del 2010. Se utilizaron 4 pavos criollos reproductores mejorados provenientes de la empresa "Agropecuaria San Miguel" (ISAMISAC). La edad promedio de los animales fue de 28 semanas y el peso promedio de 15.5 Kg. Fueron alimentados con una dieta balanceada preparada en la Planta de Alimentos de ISAMISAC, con un consumo diario de 350 g/ día y agua ad libitum. Así mismo, se aplicó un programa de horas luz de 15 a 16 horas.

Se evaluaron 3 concentraciones de DMSO en el dilutor BPSEm: 4% (T1), 6% (T2) y 9%(T3). Los tratamientos se aplicaron a una fracción representativa del volumen total de la muestra. La muestra de estudio fue el producto de una mezcla de los 4 eyaculados que se denominó "pool de semen". Se realizaron 10 repeticiones durante el experimento.

La técnica de colección seminal utilizada fue la de masaje dorso abdominal, logrando así la expulsión del semen por la papila eyaculatoria. Se realizó la colección 2 veces por semana. Se utilizó el dilutor BPSE descrito por Sexton, 1977 (Citrato de potasio, 0.64g; Acetato de sodio, 4.3g; Glutamato de sodio, 8.67g; Cloruro de magnesio, 0.34g; Fructosa 5.0g; TES:N-tris [Hidroximetil] metil-2-Aminoetano ácido Sulfónico, 1.95g; Fosfato de potasio, 0.65g; Difosfato de potasio, 12.7g) siendo la formulación de BPSE modificado el cambio de Citrato de potasio por Citrato de sodio, 1.64g; Fructosa, de 5g a 3g y como fuente de fosfatos solamente el fosfato de potasio monobásico, 0.65g, 4

Tinción eosina y nigrosina, para determinar viabilidad espermática



Para la realización de las pruebas seminales (evaluaciones microscópicas y macroscópicas) se tomó 100 µl del pool de semen. La otra fracción de la muestra fue diluida (1:3) con el dilutor A (sin crioprotector) en 3 tubos de centrifuga que fueron mantenidos en la incubadora (38.5°C) por un tiempo de 3 minutos, para luego disminuir la temperatura gradualmente hasta llegar a la temperatura de 15°C, y luego rápidamente a 4°C, en seguida se adicionó 1 ml del dilutor B (con crioprotector): (4, 6 y 9% DMSO) en tres fracciones a los 0, 15 y 30 min. La motilidad progresiva fue evaluada luego de añadir cada fracción. La integridad de membrana fue evaluada utilizando el método "Water test", descrito por Donoghue *et al.*, 1996. Luego de alcanzados los 5°C, el semen fue empajillado (0.25 ml), procediéndose a realizar el congelamiento, para lo cual se utilizaron vapores de nitrógeno. La temperatura descendió de 0°C a -100°C en 4 minutos, luego las muestras fueron sumergidas en nitrógeno (-196°C). La descongelación se realizó al exponer las pajillas por 20 segundos en baño maría a una temperatura de 42°C.



En el presente estudio se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA), siendo los tratamientos las concentraciones del crioprotector DMSO en el dilutor: 4% (T1), 6% (T2) y 9% (T3). Las variables respuesta considerada y expresadas en porcentajes fueron los resultados obtenidos de las evaluaciones de motilidad progresiva e integridad de membrana espermática del semen criopreservado.

Se realizó la prueba Tukey para evaluar la diferencia entre los tratamientos y comparar los efectos fijos significativos para las variables respuestas en los tratamientos. Además se utilizó la estadística descriptiva para comparar los resultados de las características seminales del semen fresco.

RESULTADOS Y DISCUSION

Características seminales del semen fresco

En el presente estudio se obtuvo un volumen promedio 0.18 ± 0.05 ml de semen, el cual se encuentra en el rango de 0.05 a 0.5 ml según lo indicado por Pérez y Pérez (1986). En cuanto a la concentración espermática 5367 ± 1062 millones/ml, ésta es similar a lo reportado por Moya (2003) quien indica una concentración promedio de 5372 millones de espermatozoides/ml en semen de pavos de la línea Hybrid. Respecto a los porcentajes de integridad espermática fue $76.27 \pm 4.0\%$ y anomalías morfológicas espermáticas fue $12.88 \pm 4.81\%$ están dentro del rango promedio propuesto por Alkan (2002).

La motilidad espermática $82.10 \pm 5.34\%$ y el porcentaje de integridad de membrana $64.10 \pm 7.93\%$ se asemejan a los encontrados por Donoghue *et al.* (1997) quien reporta valores de 75.4 ± 10.9 a 80.0 ± 6.4 % de motilidad progresiva y $62.5 \pm 5.2\%$ de integridad de membrana espermática en semen de pavos de la línea Hybrid.

Evaluación del semen criopreservado

Para el semen refrigerado, los parámetros de motilidad progresiva, viabilidad espermática (espermatozoides vivos) e integridad de membrana espermática no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos a la prueba de comparación Tukey, siendo los tratamientos de 4 y 6% de DMSO las que mostraron motilidades del 70.55 ± 8.58 % y 73.50 ± 7.09 % respectivamente. Se observó más del 50 % de espermatozoides vivos en los tratamientos evaluados y para la integridad de la membrana espermática los valores porcentuales fueron de 56.47 ± 4.71 ; 56.27 ± 4.31 y 56.27 ± 5.56 respectivamente en los tratamientos de 4, 6 y 9% de DMSO.

Respecto a los promedios obtenidos en el semen post-congelado, los porcentajes de motilidad progresiva e integridad de membrana espermática, a la prueba Tukey muestran diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) respecto al efecto entre los tratamientos. En el tratamiento con 6% DMSO ($19.72 \pm 10.14\%$) fue superior al encontrado con los tratamientos 4 y 9% de DMSO (13.42 ± 8.31 y $9.22 \pm 5.23\%$), siendo éstos superiores a los encontrados por Ochoa (2010) quien reporta 10 ± 5.0 % de motilidad progresiva usando Suero Fetal Equino (SFE) criopreservado con 10% DMSO y un promedio de 5% de motilidad usando el dilutor Triladyl con 5 y 10% de DMSO en semen post congelado de pavos criollos.

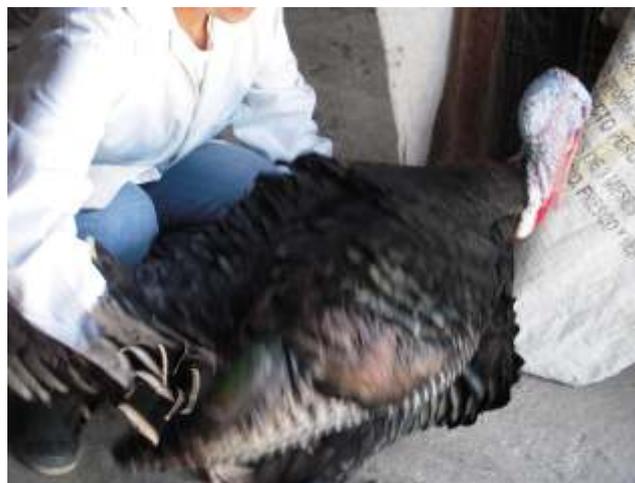
CONCLUSIONES

No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) para los parámetros evaluados en las muestras de semen refrigerado.

El dilutor BPSEm con 6% de DMSO presentó tasas aceptables de motilidad progresiva (19.72%) e integridad de membrana (37.01%) al evaluar el semen post congelado ($p < 0.05$), observando a su vez una disminución significativa de los parámetros evaluados desde la colección hasta el congelamiento.

BIBLIOGRAFIA

- Alkan, S.; A. Baran; B. Ozdas; M. Evecen. 2002. Morphological defects in Turkey Semen. *Turk J Vet Animal Sci.* 26: 1087-1092.
- Donoghue, M.A.; D.J. Donoghue. 1997. Effects of Water- and Lipid- Soluble Antioxidants on Turkey Sperm Viability, Membrane Integrity, and Mobility During Liquid Storage. *Poultry Science* 76: 1440-1445
- Donoghue, A.M.; D. Garner; D.J. Donoghue; L.A. Johnson. 1996. Assessment of the membrane integrity of fresh and stored turkey spermatozoa using a combination of hyposmotic stress, fluorescent staining and flow cytometry. *Poultry Science* 46: 153- 163.
- Moya, A. 2003. Introducción de la Inseminación Artificial en el Desarrollo de la Cría de Pavos. *Rev. Cubana de Ciencia Avícola.* 27(2): 129- 133.
- Pérez y Pérez, F. 1986. Reproducción e Inseminación Artificial Ganadera. Editorial Científico – Médico. p. 538-541.
- Sexton, T.J. 1977. A new poultry semen extender. *Int. Poult. Sci.* 56: 1443-1446.
- Ochoa, F.A. 2010 Evaluación de Agentes Crioprotectores para la Criopreservación del semen de Guajolote (Meleagris gallopavo). Tesis. Universidad Michoacana de San Nicolás de hidalgo, Morelia, Michoacan, México.



Entrenamiento de Pavo macho, en colección de semen

