

VIABILIDAD ESPERMÁTICA EN SEMEN DE CARNERO CONGELADO POR DOS MÉTODOS

Sperm viability of frozen ram semen ram by two methods

U.H. Perez¹, M. Perez², E.A. Mellisho³

¹Escuela de Post Grado, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno.

³Departamento de Producción Animal, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima.

E-mail: harguer19@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El uso de semen congelado en ovino está produciendo un gran impacto en el mejoramiento genético mundial, al permitir acelerar considerablemente el flujo de material genético superior hacia sectores poblacionales de inferiores características productivas, facilita el transporte de semen a nivel internacional y permite mantener bancos de semen aun cuando los animales estén muertos (Cueto *et al.*, 2004). La criopreservación es un proceso por la cual una subpoblación de espermatozoides sobrevive y mantiene su capacidad fecundante (Watson, 2000). La sobrevivencia espermática post descongelación depende de la temperatura inicial de congelación y la tasa de congelación (Salamon, 1970). El objetivo del trabajo fue comparar la viabilidad espermática de semen de carnero congelado por dos métodos, con y sin control de la tasa y temperatura de congelación.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, Universidad Nacional del Altiplano, Melgar, Puno (3970 m.s.n.m). Se utilizaron 5 carneros adultos (2 raza Merino y 3 criollo-mejorado), siendo estos mantenidos en un sistema mixto de pastoreo/estabulado. Se realizaron 5 colectas a cada carnero con una vagina artificial. Se utilizó el dilutor tris-yema-glicerol a una concentración final de 160 millones/ml, en dos etapas, primero a 15 °C dilutor sin glicerol y segunda a 5 °C dilutor con glicerol. Posteriormente, se realizó el envasado de las pajillas (0,25ml) y se dejaron 1 hora en tiempo de equilibrio, luego se procedió a congelar. Las pajillas de semen del tratamiento controlado fueron expuestas a una tasa de congelación de -20°C/minuto por 6 minutos (-120°C) y, posteriormente, sumergidas en nitrógeno líquido (NL; -196°C). En el método SIN CONTROL, las pajillas fueron colocadas en rejillas a 6 cm sobre el nivel de NL, dentro de una caja de tecnopor cerrada herméticamente por 10 minutos, siendo luego sumergidas en NL.

Las muestras fueron evaluadas en motilidad individual, vitalidad y test hiposmótico. La prueba hiposmótica fue seguida, de acuerdo a Tribulo (2009), a una dilución de 1:10 (semen: solución hiposmótica) e incubadas por 45 minutos a 37° C. Los datos de motilidad, vitalidad y test hiposmótico fueron estandarizados a valores angulares (arcoseno) previo al análisis estadístico con el modelo ANVA del programa estadístico SAS (Statistical Analysis System) 9.12.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los eyaculados (n=25) de los 5 carneros Merino y Criollo mejorado, tuvieron las siguientes características: volumen (1,18±0,21mL), motilidad masal (4,5±0,4pts) y concentración espermática (3,89±0,52x 10⁹ espermatozoides/mL).

Cuadro 1. Efecto de las temperaturas de congelación sobre la viabilidad espermática.

	TASA Y TEMPERATURA DE CONGELACION	
	CONTROLADO	SIN CONTROL
Motilidad (%)	58,58 ± 7,79 _a	44,94 ± 5,98 _b
Test Hipo-osmótico (%)	52,2 ± 11,14 _a	39,95 ± 9,47 _b
Vitalidad (%)	54,65 ± 4,43 _a	45,00 ± 11,10 _b

Los valores en la misma fila con letra diferente muestran diferencia (p≤0.05).

La mayor viabilidad espermática fue observado en el tratamiento CONTROLADO frente a el tratamiento SIN CONTROL (cuadro 1), debido a un menor daño estructural a nivel de membranas y organelos espermáticos (mitocondrias, acrosoma, ADN), durante los procesos de congelación y descongelación (Vishwanath y Shannon, 2000). El mayor tiempo de exposición de las pajillas (10 minutos grupo SIN CONTROL) a los vapores de NL posiblemente ocasione una mayor deshidratación de los espermatozoides determinando un mayor shock osmótico a la descongelación en comparación con el tratamiento CONTROLADO (Watson, 2000). Chen et al. (1993) indican que la sobrevivencia de los espermatozoides a temperatura inicial de congelación de -50°C, -75°C y -100°C a -196°C es (36%), (59%) y (60%) respectivamente, concluyendo la sensibilidad del espermatozoide a los cambios radicales de temperatura de congelación. Watson (2000) indica que una tasa de congelación controlada esta asociada con una mayor sobrevivencia, comparado con altas tasas de deshidratación donde la muerte celular en mas común.

CONCLUSIÓN

Se obtiene una mayor viabilidad espermática cuando la congelación de semen de carneros es llevada con una tasa definida de congelación (-20 °C/minuto) y una temperatura determinada de congelación (-120 °C) comparado con la congelación convencional sin control de estos factores.

REFERENCIAS

- Chen, Y., Foote, R., Tobback, C., Zhang, L., Hough, S. 1993. Survival of bull spermatozoa seeded and frozen at different rates in egg yolk-tris and whole milk extenders. *Journal Dairy Science* 76: 1028-1034.
- Cueto, M., Gibbons, A., García, J., Wolff, M., Arrigo, J. 2004. Obtención, procesamiento y conservación del semen ovino. *Reproducción y genética*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Bariloche, Argentina.
- Salamon, S. 1970. The survival of ram spermatozoa following pellet freezing below -79 °C. *Aust. J. Biol. Sci.* 23: 459-468.
- Tribulo, H. 2009. Curso de congelado de semen bovino. Argentina. Instituto de Reproducción Animal Córdoba IRAC. *Guía práctica*. p. 31-33.
- Vishwanath, R., Shannon, P. 2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Animal Reproduction Science* 62:23-53.
- Watson, P. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim. Repro. Sci.* 61: 481-492.