

TEST DE CONGELACIÓN DE SEMEN DE BURRO CRIOLLO (*EQUUS ASINUS*)

ANALYSIS OF FREEZE SEMEN OF CREOLE DONKEY (*EQUUS ASINUS*)

Toscano I.A.^{1*}, Olivo I.B.¹, Núñez R.E.¹, Cajero M.², Val D.², Conejo J.¹

¹Titulado de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

*daggetyandy@yahoo.com.mx

²Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Keywords: Donkey; extensor; progressive motility; semen; viability.

Palabras clave: Centrifugación; diluyente; movilidad progresiva; semen; viabilidad.

Abstract

In Mexico, there has been a significant decline in population asinine in recent years, it continues this way would put the species at risk of extinction over the medium term. Aim: freeze semen of creole donkey (*Equus asinus*) using two commercial extensor, for horses (Equipro®) and bovine (Triladyl®) with and without seminal plasma. We obtained 15 ejaculates from 3 creole donkey's reproductive stage by artificial vagina method. The sperm fraction was evaluated macroscopically and microscopically. Each ejaculate was divided and frozen in the above extensor with or without removal of seminal plasma (centrifugation (CENT) and non-centrifuged (N/C), respectively). The percentages of progressive motility (PM), viability (V) and functional status of the sperm plasma membrane (trained (T) untrained (UT) and acrosome reaction (AR)) by chlortetracycline in two stages: post-dilution (PD) and post-thawing (PT) were determined. An analysis of one way variance was performed. Results, Equipro: PM/PD 76.3 ± 7.4 and 73.0 ± 6.2 ; PM/PT 35.7 ± 10.7 and 31.3 ± 9.2 ; V/PD 76.1 ± 9.6 and 77.7 ± 8.0 ; V/PT 67.7 ± 9.1 and 65.0 ± 11.6 CENT and N/C respectively. Triladyl: PM/PD 72.0 ± 10.7 and 73.3 ± 5.6 ; PM/PT 40.3 ± 9.9 and 37.3 ± 8.0 ; V/PD 79.1 ± 7.9 and 78.9 ± 7.1 ; V/PT 66.6 ± 10.6 and 66.5 ± 8.9 CENT and N/C respectively. Non significant values were obtained ($P > 0.05$) compared Equipro vs Triladyl. T, UT and AR no changed. Conclusions: Triladyl and Equipro are effective for freezing creole donkey semen and local germplasm pool could be made.

Resumen

En México, ha habido un descenso significativo de la población asnal en los últimos años, que de seguir así pondría a la especie en riesgo de desaparecer a mediano plazo. Una estrategia que apoya la conservación de las razas locales es la criopreservación de semen. Los estudios sobre congelación de semen de burro se basan principalmente en la especie equina, con diferentes modificaciones. El presente trabajo tiene como objetivo la congelación de semen de burro criollo (*Equus asinus*) utilizando dos diluyentes comerciales diseñados para equino (Equipro®) y bovino (Triladyl®) con y sin plasma seminal. Se obtuvieron 15 eyaculados provenientes de 3 burros criollos en etapa reproductiva mediante vagina artificial. La fracción espermática se evaluó macro y microscópicamente. Cada eyaculado se dividió y congeló en los diluyentes antes mencionados con y sin remoción de plasma seminal (centrifugado (CENT) y no centrifugado (S/C), respectivamente). Se determinaron los porcentajes de movilidad progresiva (MP), viabilidad (V) y estado funcional de la membrana plasmática del espermatozoide (capacitados (CA) no capacitados (NC) y con reacción acrosomal (RA)) mediante clortetraciclina en dos momentos: postdilución (PD) y postdescongelación (PC). Se realizó un análisis de varianza de una vía. Resultados, Equipro: MP/PD 76.3 ± 7.4 y 73.0 ± 6.2 ; MP/PC 35.7 ± 10.7 y 31.3 ± 9.2 ; V/PD 76.1 ± 9.6 y 77.7 ± 8.0 ; V/PC 67.7 ± 9.1 y 65.0 ± 11.6 CENT y S/C respectivamente. Triladyl: MP/PD 72.0 ± 10.7 y 73.3 ± 5.6 ; MP/PC 40.3 ± 9.9 y 37.3 ± 8.0 ; V/PD 79.1 ± 7.9 y 78.9 ± 7.1 ; V/PC 66.6 ± 10.6 y 66.5 ± 8.9 CENT y S/C respectivamente. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre diluyentes, ni con semen CENT y S/C. Los porcentajes de CA, NC y RA fueron similares entre los tratamientos. Sin embargo, si hubo una disminución de la MP en el semen postdescongelado en cada uno de los tratamientos. Se concluye que el Equipro y el Triladyl son eficaces para la congelación del semen de burro criollo y que puede prescindirse de la centrifugación sin afectar la sobrevivencia de los espermatozoides.

Introducción

En México, ha habido un descenso significativo de la población asnal en los últimos años, esto podría poner en riesgo a esta especie a mediano plazo. La criopreservación de semen es una estrategia eficiente para la preservación del germoplasma. El objetivo de este trabajo fue la congelación de semen de burro criollo (*Equus asinus*) utilizando dos diluyentes comerciales diseñados para equino (Equipro®) y bovino (Triladyl®) con y sin plasma seminal.

Material y métodos

Se analizaron 15 muestras seminales provenientes de 3 burros criollos en etapa reproductiva con características raciales Andaluz y Catalán. Se colectaron en julio-diciembre del 2013 mediante vagina artificial. Los animales son provenientes de municipios conurbados de la ciudad de Morelia, Michoacán. Las características macroscópicas estudiadas del semen fueron: volumen, color y pH; y las microscópicas: movilidad masal, movilidad progresiva, viabilidad, morfología y concentración espermática (Taberner, 2010). Cada eyaculado se dividió en 4 fracciones y se sometió a los siguientes tratamientos: a) Dilución en Equipro Cryoguard® (Base lactosa; 20% de yema de huevo y 6.21% de glicerol), con y sin remoción del plasma seminal (centrifugado (CENT) y no centrifugado (S/C), respectivamente). b) Dilución en Triladyl® (Base Tris; 20% yema de huevo y glicerol), CENT y S/C. Además, se evaluaron las siguientes variables para comparar las posibles diferencias entre diluyentes: movilidad progresiva (MP); viabilidad (V); estado funcional de la membrana plasmática (capacitados (CA) no capacitados (NC) y con reacción acrosomal (RA) mediante el fluorocromo clortetraciclina. Todas las variables fueron evaluadas postdilución (PD) y postdescongelación (PC). Se realizó un análisis de varianza de una vía.

Resultados

No se encontraron diferencias significativas entre diluyentes, tampoco comparando semen centrifugado y sin centrifugar, postdiluido y postdescongelado (Tabla I y II).

Tabla I. Parámetros de calidad seminal postdilución (*Semen quality parameters post-dilution*)

	Tratamiento			
	Equipro Centrifugado		Triladyl Centrifugado	
	CENT	S/C	CENT	S/C
MP	76.3 ^a ± 7.4	73.0 ^a ± 6.2	72.0 ^a ± 10.7	73.3 ^a ± 5.6
V	76.1 ^a ± 9.6	77.7 ^a ± 8.0	79.1 ^a ± 7.9	78.9 ^a ± 7.1
CA	50.5 ^a ± 11.8	46.9 ^a ± 9.4	45.9 ^a ± 13.8	46.1 ^a ± 12.4
NC	43.1 ^a ± 11.6	46.9 ^a ± 9.6	47.7 ^a ± 14.4	48.8 ^a ± 12.9
RA	6.5 ^a ± 4.6	6.1 ^a ± 2.9	6.5 ^a ± 4.5	4.8 ^a ± 3.8

MP: Movilidad progresiva; V: Viabilidad; CA: Capacitado; NC: No capacitado y RA: Reacción acrosomal; P < 0.05

Tabla II. Parámetros de calidad seminal postdescongelación (*Semen quality parameters post-thawing*)

	Tratamiento			
	Equipro centrifugado		Triladyl centrifugado	
	CENT	S/C	CENT	S/C
MP	35.7 ^a ± 10.7	31.3 ^a ± 9.2	40.3 ^a ± 9.9	37.3 ^a ± 8.0
V	67.7 ^a ± 9.1	65.0 ^a ± 11.6	66.6 ^a ± 10.6	66.5 ^a ± 8.9
CA	62.8 ^a ± 6.6	64.9 ^a ± 7.7	60.1 ^a ± 8.4	63.7 ^a ± 8.6
NC	27.1 ^a ± 5.7	26.5 ^a ± 6.8	31.5 ^a ± 5.8	25.8 ^a ± 7.3
RA	10.1 ^a ± 4.3	8.6 ^a ± 1.8	8.3 ^a ± 4.7	10.5 ^a ± 3.9

P < 0.05

Los porcentajes de CA, NC y RA fueron similares entre los tratamientos. Sin embargo, si hubo una disminución de la MP en el semen PC en cada uno de los tratamientos (Tabla II). De acuerdo a los resultados en semen PD tiene mayores posibilidades de fertilización con una MP y V mayores al 70%. El % de espermatozoides CA

aumentó en el semen PC en ambos diluyentes, CENT y S/C. El % de RA se mantuvo disminuido lo que garantiza la viabilidad de los espermatozoides.

Conclusiones y discusión

Los valores promedio de MP y V en semen CENT concuerdan con lo reportado por Miró *et al* (2009), quienes obtuvieron una MP y V de 72.40% y 66.30% respectivamente, al comparar el efecto del plasma seminal en burros Catalán, encontrando que los mejores porcentajes de MP y V fueron con el semen diluido sin plasma seminal. Rota *et al* (2008) indicaron que la remoción del plasma seminal en burros Amiata, durante la criopreservación no parece ofrecer ninguna ventaja sobre el uso del semen diluido, lo que concuerda con los resultados del presente trabajo. Los porcentajes de MP y V del semen PC en Triladyl y Equipro, son similares también a lo reportado por Qeusada *et al* (2012) quienes utilizaron Equipro (36% de MP y 63% de V). Las variables de MP y V en el semen PD sugieren el uso potencial para fertilización porque presentaron valores mayores al 70% en los dos diluyentes. Por lo tanto, ambos pueden ser utilizados indistintamente. El Triladyl ha sido empleado ampliamente en especies de ungulados con buenos resultados con respecto a la MP y V de los espermatozoides. Para el semen de burro es una buena opción. El Equipro y el Triladyl son eficaces para la congelación del semen de burro criollo y puede prescindirse de la centrifugación sin afectar la sobrevivencia de los espermatozoides lo que implica que el proceso de congelación sea más sencillo.

Bibliografía

- Miró J., Taberner E., Rivera M., Peña A., Medrano A., Rigau T., Peñalba A. (2009). Effects of dilution and centrifugation on the survival of spermatozoa and the structure of motile sperm cell subpopulations in refrigerated Catalanian donkey semen. *Theriogenology* 72. 1017-1022.
- Qeusada F., Dorado J., Acha D., Ortíz I., Urbano M., Ramírez L., Galvez M.J., Alcaraz L., Portero J.M., González C., Demyda-Peuras S., Hidalgo M. (2012). 14 freezing of donkey semen after 24 hours of cool storage: preliminary results. *Reproduction fertility and development*. 25 (1). P. 154.
- Rota A., Panzani D., Sabatini C., Camillo F. (2012). Donkey Jack (*Equus asinus*) semen cryopreservation: studies of seminal parameters, postbreeding inflammatory response, and fertility in donkey jennies. *Theriogenology* 78 (8). P. 1846-54.
- Taberner BE. (2010). Tesis Doctoral: Tecnologías reproductivas aplicables a la conservación del burro Catalán. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. P. 23-29.