

CALIDAD SEMINAL EN GALLO: EFECTO DEL TIEMPO DE CONSERVACIÓN Y DEL DILUYENTE.

García-Tomás, M.¹, Dahmani, Y.¹, Francesch, A.² y Gómez-Rincón, C.¹

¹Dpto. de I+D+i Magapor S.L. Martín Blesa, 37, 50600, Ejea Caballeros, Zaragoza. biolab@magapor.com. ²Dpto de Genética Avícola del IRTA. Crta. de Reus - El Morell, Km 4,5, 43120, Constante, Tarragona.

INTRODUCCIÓN

El éxito reproductivo es un factor clave para la rentabilidad de la industria ganadera. En el sector del broiler la eficiencia reproductiva se empieza a considerar un factor de coste importante, debido a que la selección por velocidad de crecimiento está produciendo problemas de monta y fertilidad (Bakst and Wishart, 1995). El uso de la inseminación en la industria del broiler permitiría, al igual que en la industria del pavo, mantener unos niveles adecuados de fertilidad. A pesar del progreso obtenido respecto al desarrollo de nuevos diluyentes y los protocolos de conservación, la inseminación artificial se encuentra limitada a los núcleos genéticos debido a los requerimientos de manejo y a la ausencia de un método apropiado para la conservación de semen.

El objetivo de este trabajo fue determinar la eficacia de 4 diluyentes respecto a la conservación de la calidad seminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este ensayo se utilizaron 20 gallos de la raza "*Empordanesa Roja*". Los gallos estaban colocados en baterías individuales, alimentados *ad limitum* con una dieta estándar, y sometidos a un fotoperiodo de 16h de luz por día.

La recogida de semen se realizó mediante el método de Burrows y Quinn (1935) en viales individuales mantenidos a 37.5°C para evitar el choque térmico. Los eyaculados que tenían restos de sangre o excrementos fueron desechados. Posteriormente se procedió a hacer un homogenizado con todos los eyaculados. El *pool* resultante se dividió en 5 partes iguales. Una de las partes no se diluyó (Puro) y las restantes fueron diluidas 1:1 con uno de los siguientes diluyentes: MAGAPOR_1®, MAGAPOR_2®, COMERCIAL_0®, COMERCIAL_6®. Los diluyentes fueron atemperados a 37.5°C antes de usarlos.

Cada tratamiento se dividió en 3 réplicas que fueron muestreadas tras la dilución (0h) y después de su conservación en una cámara frigorífica a 4°C, a 6 y 24 horas. De cada réplica se evaluaron las siguientes variables: motilidad masal (MM); porcentaje de espermatozoides viables (PVi), porcentaje de espermatozoides con normalidad morfológica (PNr), porcentaje de espermatozoides con anomalías morfológicas de cola (PCo) y porcentaje de espermatozoides con reacción positiva al test HOST (PHOST). La movilidad masal fue evaluada bajo microscopio de campo claro a x100 y de acuerdo con una escala subjetiva entre 0 y 5. La viabilidad, normalidad morfológica y anormalidad de cola se determinaron a partir de una tinción vital eosina-nigrosina (Bamba, 1988), examinando 150 espermatozoides bajo microscopio de campo claro a x1000. El test HOST se realizó mediante una dilución 1:3 de las muestras en una solución hipoosmótica 50 mOsm. Las muestras se incubaron a temperatura ambiente 30 minutos y se realizó una extensión con nigrosina-eosina. Se contaron 150 espermatozoides.

Las variables de calidad seminal fueron estudiadas mediante un análisis de la varianza de acuerdo con un modelo que incluyó los factores tiempo de conservación y diluyente y la doble interacción tiempo de conservación x diluyente. Los datos expresados como porcentajes fueron transformados al arco seno antes de los análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los valores obtenidos de las variables de calidad seminal de acuerdo con el tiempo de conservación y el diluyente utilizado. El tiempo de conservación, el diluyente y la doble interacción tuvieron un efecto significativo sobre todas las variables estudiadas, excepto sobre el porcentaje de espermatozoides viables.

Tabla 1: Medias \pm e.e. de las variables de calidad seminal de acuerdo con el tiempo de conservación y el tipo de diluyente. Los datos se expresan como arco seno en todas las variables excepto para la motilidad masal (MM).

		MAGAPOR_1	MAGAPOR_2	COMERCIAL_0	COMERCIAL_6	Puro
MM ¹	0	3.33 \pm 0.33 ^{a,g}	4.33 \pm 0.17 ^{b,g}	3.33 \pm 0.33 ^{a,i}	4.17 \pm 0.33 ^{b,i,g}	3.17 \pm 0.17 ^{a,i,g}
	6	3.83 \pm 0.17 ^{a,g}	4.83 \pm 0.17 ^{b,g}	4.67 \pm 0.17 ^{b,g}	4.83 \pm 0.17 ^{b,g}	3.83 \pm 0.33 ^{a,g}
	24	1.83 \pm 0.17 ^{b,f}	3.83 \pm 0.17 ^{b,f}	4.33 \pm 0.17 ^{a,g}	4.00 \pm 0.29 ^{b,f}	2.5 \pm 0.29 ^{a,f}
PVi	0	0.88 \pm 0.13	1.15 \pm 0.12	1.15 \pm 0.10	1.10 \pm 0.05	1.08 \pm 0.26
	6	1.21 \pm 0.16	1.15 \pm 0.06	1.13 \pm 0.13	1.14 \pm 0.13	1.20 \pm 0.13
	24	1.13 \pm 0.22	1.13 \pm 0.12	1.20 \pm 0.10	1.18 \pm 0.06	1.13 \pm 0.08
PNr	0	1.05 \pm 0.02 ^{b,i}	1.34 \pm 0.06 ^{a,i}	1.40 \pm 0.09 ^{a,i}	1.38 \pm 0.05 ^{a,i}	1.41 \pm 0.02 ^{a,i}
	6	1.23 \pm 0.58 ^{a,f}	1.28 \pm 0.06 ^{a,f}	1.28 \pm 0.09 ^{a,g}	1.38 \pm 0.04 ^{a,f}	0.74 \pm 0.08 ^{b,g}
	24	1.09 \pm 0.032 ^{b,f}	0.92 \pm 0.04 ^{c,g}	1.28 \pm 0.04 ^{a,f,g}	1.16 \pm 0.06 ^{a,b,g}	0.37 \pm 0.02 ^{d,h}
PCo	0	0.003 \pm 3.5E ⁻⁴ ^{a,i}	0.003 \pm 0.001 ^{a,i}	4.94 \pm 2.5E ⁻⁴ ^{a,i}	0.001 \pm 3.5E ⁻⁴ ^{a,i}	0.001 \pm 0.001 ^{a,i}
	6	0.01 \pm 0.01 ^{a,f}	0.002 \pm 0.001 ^{a,f}	0.003 \pm 0.002 ^{a,f}	0.001 \pm 0.001 ^{a,f}	0.03 \pm 0.008 ^{b,g}
	24	0.006 \pm 0.01 ^{a,f}	0.012 \pm 0.002 ^{a,g}	0.004 \pm 0.002 ^{a,f}	0.005 \pm 0.001 ^{a,f}	0.04 \pm 0.001 ^{b,h}
PHOST	0	0.96 \pm 0.07 ^{b,c,i}	1.05 \pm 0.04 ^{c,i}	0.55 \pm 0.06 ^{b,i}	0.84 \pm 0.05 ^{a,i}	
	24	0.71 \pm 0.08 ^{a,f}	0.73 \pm 0.04 ^{a,g}	0.55 \pm 0.10 ^{a,g}	0.099 \pm 0.02 ^{b,g}	

a,b,c,d indican diferencias significativas entre diluyentes (fila)

f,g,h indican diferencias significativas entre tiempos de conservación (columnas)

¹MM: motilidad masal; PVi: porcentaje de espermatozoides viables; PNr: porcentaje de espermatozoides con normalidad morfológica; PCo: porcentaje de espermatozoides con anomalías morfológicas de cola; PHOST: porcentaje de espermatozoides con reacción positiva al test HOST.

%PVi = seno (PVi)*100, %PNr = seno (PNr)*100, %PCo = seno (PCo)*100, %PHOST = seno (PHOST)*100

Respecto a la MM, los valores en general se encontraron por encima de los estándares aceptados para la inseminación, únicamente el diluyente MAGAPOR_1 presentó a 24 h de conservación una MM por debajo de los niveles considerados adecuados. En función de los valores y la evolución en el tiempo se distinguían dos grupos de muestras: las diluidas en MAGAPOR_1 y el semen puro, y las diluidas en MAGAPOR_2, COMERCIAL_6 y COMERCIAL_0. Siendo los valores de MM más altos en el segundo grupo (valores medios alrededor de 3 y valores medios alrededor de 4, respectivamente). Del segundo grupo es subrayable que COMERCIAL_0 parece necesitar un periodo de adaptación antes de llegar a sus valores más altos.

Cabe destacar la estabilidad que presentan los valores de PVi durante el período de estudio. Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Dumpala et al. (2006), quienes encontraban un decremento lineal del porcentaje de espermatozoides vivos con el tiempo de conservación cuando el semen se almacenaba por un período de 8 h a diferentes temperaturas (4°C, 21°C y 41°C). Los resultados obtenidos en este trabajo podrían estar relacionados con una baja sensibilidad de la tinción eosina-eosina para la determinación de la vitalidad espermática en esta especie.

Las muestras diluidas presentaron en todos los casos un PNr adecuado para la inseminación hasta las 24 h de conservación (80-90%), por el contrario las muestras de semen puro mostraron una importante disminución del PNr ya desde las 0 h. La evolución del PNr fue inversamente proporcional a la evolución del PCo. A medida que incrementaba

el tiempo de conservación aumentaba el porcentaje de defectos morfológicos (mayoritariamente colas), estos resultados coincidieron con los encontrados por Clarke et al. (1984).

La variable PHOST sólo se pudo estudiar a 0 y 24 h de conservación sobre las muestras diluidas. La poca cantidad de semen hizo que no pudieran hacerse replicas a 6 h de conservación ni con semen puro. Los diluyentes MAGAPOR_1, MAGAPOR_2 y COMERCIAL_6 presentaron unos valores iniciales adecuados para la inseminación artificial. A 0h de conservación MAGAPOR_2 presentaba el valor más alto (86.7%) y COMERCIAL_0 el valor más bajo (52.3%), mientras que MAGAPOR_1 (81.9%) y COMERCIAL_6 (74.5%) se encontraban en una situación intermedia. A 24 h de conservación todas las muestras, a excepción de COMERCIAL_0, presentaron una disminución del parámetro. Las muestras diluidas en COMERCIAL_6 presentaron una disminución importante de PHOST (alrededor de un 65%), obteniéndose unos valores no aptos para la inseminación. MAGAPOR_1 y MAGAPOR_2, por el contrario, presentaron unos valores de PHOST a 24 h de conservación (65.2% y 66.7%, respectivamente) suficientemente elevados para su utilización en inseminación artificial.

No se han encontrado en la bibliografía científica unos valores estándares de los parámetros de calidad seminal para la inseminación artificial en broiler. A pesar de ello, se podría concluir que a 0 h de conservación todos los diluyentes estudiados presentaban una calidad seminal adecuada para la inseminación, mientras que a 24 h únicamente las muestras diluidas en MAGAPOR_2 mostraban en todos los parámetros estudiados unos valores competentes para la inseminación artificial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bakst, M.R. & Wishart, G.J. 1995. Proceedings First International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry. Poultry Science Association Savoy, Illinois.
- Bamba, K. 1988. Theriogenology 29:1245-1251.
- Burrows, W.H. & Quinn, J.P. 1935. Poult Sci 14: 251-254.
- Clarke, R.N., Bakst, M.R. & Ottinger, M.A. 1984. Poult Sci 63: 801-805.
- Dumpala, P.R., Parker, H.M. & McDaniel, C.D. 2006. Intern J Poult Sci 5: 838-845.

COCK SEMEN QUALITY: EFFECT OF TIME STORAGE AND SEMEN EXTENDER.

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the effect of 4 cock semen extenders on semen quality parameters. Abdominal massage technique was used to collect cock's semen of "*Empordanesa roja*" (n=20) breed. Semen was pooled and diluted (1:2) in MAGAPOR_1, MAGAPOR_2, COMERCIAL_0 or COMERCIAL_6. Each semen samples were evaluated at 0, 6 and 24 hours of storage at 5°C. The traits studied were: mass motility, percentages of viable and normal spermatozoa, and percentage of spermatozoa with membrane integrity. Data were analyzed using GLM procedures according to a model that included the fixed factors of breed and storage time and the double interaction breed x storage time. Semen extender, storage time and double interaction showed a significant effect on semen quality parameters, except on the percentage of viable spermatozoa. It could be concluded that all studied semen extenders showed, at 0 hours of storage, an adequate conservation capacity. However, at 24 hours of storage only samples diluted in MAGAPOR_2 showed values of semen quality fitted to artificial insemination.

Keywords: cock, extender, semen quality