

## EFFECTO DE LAVADO DE SEMEN EN LA SOBREVIVENCIA DE ESPERMA PORCINO CONSERVADO A TEMPERATURA AMBIENTE (22°C)

Cavazos R., F., J.F. Uresti S. y J. García C.

Universidad Autónoma de Nuevo León  
A.P. 358 San Nicolás de los Garza, N.L. México

### INTRODUCCION

El eyaculado de cerdo está caracterizado por una abundante secreción de semen que puede variar de 125 a 500 ml, siendo lo más común de 200 ml. Para propósitos de procesamiento y almacenamiento de semen, volúmenes tan grandes representan por sí mismos una dificultad. Sin embargo, el semen puede concentrarse reduciendo su fluido seminal. Diferentes trabajos han reportado varios diluyentes para lavar semen, traando el semen diluido con un proceso de centrifugación, lo anterior no tan solo permite concentrar el espermatozoide, sino que elimina el exceso de fluido seminal y sus contaminaciones, las que en un momento dado pueden resultar en detrimento de la viabilidad del espermatozoide. El propósito de este trabajo es probar el diluyente SOF (García, 1986), como un medio para lavar y concentrar los espermatozoides mediante un proceso de centrifugación a 1000, 2000 y 4000 rpm durante tres diferentes tiempos de centrifugación 2, 4 y 6 minutos.

### MATERIALES Y METODOS

Las pruebas de laboratorio se iniciaron el mes de septiembre de 1989 y se concluyeron el mes de diciembre del mismo año. Se utilizó el método de la vagina artificial para la extracción de semen, utilizando un maniquí simulando una cerda en celo. Posteriormente de la extracción, el semen fue llevado al laboratorio para ser procesado.

Se tomó una muestra para observar su motilidad, la cual debería ser buena para seguir el procesamiento. Posteriormente se hace el lavado del semen utilizando el diluyente SOF (Saliva artificial de McDougall, *Opuntia* sp. y fructosa) cuyas concentraciones fueron: 80% de saliva artificial de McDougall, 20% de mucilago de nopal (*Opuntia* spp) y 2.5 g de fructosa por 100 ml de diluyente, además de 1000 U.I. de penicilina sódica y 1 mg de estreptomycinina por ml de diluyente. El lavado de semen se realizó de la siguiente manera: se tomó una parte de semen en un tubo de ensaye y se agregó una parte de diluyente SOF, posteriormente se centrifugaron utilizando diferentes velocidades (1000, 2000, 3000 y 4000 rpm) y diferentes tiempos (2, 4 y 6 min) dependiendo del tratamiento de que se trate; esto con el fin de encontrar en qué tiempo y a qué velocidad de centrifugación los espermatozoides duraban más tiempo vivos. El objetivo de la centrifugación es el de concentrar los espermatozoides y eliminar el exceso de fluido seminal y sus contaminaciones, las que en un momento dado pueden resultar perjudiciales en la viabilidad del espermatozoide. Después de la centrifugación se decantaron todos los tubos y se les agregó diluyente SOFY (García y Luna, 1990) para conservar los espermatozoides durante más tiempo a temperatura ambiente, este diluyente contiene: 75% de saliva McDougall, 10% de mucilago de nopal (*Opuntia* spp) 2.5 g de fructosa por 100 ml de diluyente y 15% de yema de huevo además de 1000 U.I. de penicilina sódica y 1 mg de estreptomycinina por ml de diluyente. Posteriormente se tomaron lecturas periódicas de la motilidad de cada tratamiento.

cada compuesto varían dependiendo del tratamiento que se trate.

El método que se siguió para la congelación fue el siguiente: Después de checar la motilidad del semen, se procede a lavarlo por centrifugación a 2000 rpm durante cuatro minutos, posteriormente se decantan los tubos y se agrega 2.5 ml de la parte A del diluyente para congelar, luego se colocan los tubos en el cuarto frío o refrigerador protegidos en un recipiente térmico rodeado de agua, con el fin de disminuir la temperatura gradualmente a 5° C, evitar el choque térmico. Una vez que las muestras están a 5° C se le va agregando la parte B del diluyente para congelar que contiene diferentes niveles de glicerol dependiendo del tratamiento de que se trate. Esta parte se agrega en 30 min a intervalos de 10 min, por lo tanto, la parte B se agrega en cuatro ocasiones a razón de 0.625 ml cada vez. Inmediatamente después se procede al congelamiento, que consiste en lo siguiente: se toma una barra de hielo seco (CO<sub>2</sub>) cuya temperatura es de -79° C y se le hacen depresiones con alguna varilla calentada de un extremo, se toma una muestra de semen diluido con una pipeta Pasteur y se coloca en las depresiones, dejándolo por espacio de 10 min hasta que el "pellet" esté perfectamente bien congelado, posteriormente se pasa a un tanque con nitrógeno líquido.

Con el propósito de determinar cuál es el mejor nivel de yema de huevo en el diluyente para congelar semen, así como también el nivel de glicerol, se probaron niveles de 10, 15 y 20% de yema de huevo y 2, 4 y 6% de glicerol bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial en tratamientos (Steel y Torrie, 1960).

El modelo

$$Y_{ijk} = u + A_i + B_j + (AB)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = La i-ésima observación sujeta al j-ésimo nivel de A y al k-ésimo nivel de B.

$u$  = Efecto verdadero de la media poblacional

$A_i$  = El efecto del i-ésimo nivel de yema de huevo,  $i=1...a$

$B_j$  = El efecto del j-ésimo nivel de glicerol,  $j = 1...b$

$(AB)_{ij}$  = Efecto de la interacción

$E_{ijk}$  = Efecto del error experimental

La diferencia entre los promedios tanto de los factores, como interacción entre los factores se hicieron usando la prueba de diferencia mínima significativa (D.M.S.).

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

Las mejores motilidades post-descongelado de esperma diluido en SOFY se lograron cuando la yema de huevo estuvo presente en 15% y el glicerol en 2% del diluyente. La composición del diluyente SOFY (García, 1986) adaptado a esta prueba fue de: saliva artificial de McDougall compuesta de NaHCO<sub>3</sub> (.98 g/100 ml), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (.7 g/100 ml), HCL (.057 g/100 ml), NaCl (.047 g/100 ml) y MgSO<sub>4</sub> (.012 g/100 ml) a todo lo anterior (73 ml) fueron añadidos 10 ml de extracto de *Opuntia* sp., 2.5 g de fructosa, 2% de glicerol y antibióticos a razón de 1000 U.I. de penicilina y 1 mg de estreptomina por cada ml de semen diluido. El anterior diluyente llamado SOFY representa una alternativa para ser usado en la inseminación artificial de cerdas ya sea en su estado resco (García y Luna, 1990) o en su estado post-descongelado según este trabajo.

Tabla 1. Tabla de motilidad post-descongelado expresadas como ángulos bliss, para dos factores, yema de huevo y glicerol en SOFY.

Factor A (% de yema de huevo)	Factor B (% de glicerol)			Medias
	2	4	6	
10	32.86	15.68	12.79	20.44
15	38.93	24.70	22.76	28.79
20	30.96	10.25	16.13	19.11
Medias	34.25	16.87	17.23	22.78

Tabla 2. Análisis de varianza para motilidades post-descongelado (expresadas como ángulos bliss) para esperma diluido en SOFY.

F.V.	g.L.	C.M.	F	P F
Yema de huevo	2	330.56	58.28	**
Glicerol	2	1183.28	208.61	**
Interacción	4	27.42	4.83	**
Error	27	5.67		
Total	35			

\*\* (P .01)

CV = 10.45%

#### LITERATURA REVISADA

ERICKSON, W.E. 1974. Update on sewine A.I. Proc. 5th Tech. Conf. on A.I. and Reprod. pp:82-84.

GALLI, A. and M. BOSISIO. 1988. Quality of semen stored at 15°C/16°C as related to fertility of artificially inseminated swine. Theriogenology, 30(6):1185.

GARCIA C., J. y LUNA S. 1990. Inseminación artificial de cerdas usando semen fresco diluido en saliva. Opuntia, fructosa y yema de huevo (SOFY) Por publicar.

LUNA S. 1987. Inseminación artificial usando semen fresco diluido en SOFY. Tesis sin publicar.

McDOUGALL, E.I. 1947. Studies on ruminant saliva. Biochem J. 43:99.

PURSEL, V.G. y L.A. JOHNSON. 1971. Fertility with frozen boar spermatozoa. J. Anim. Sci. 33:265 (Abstr.)

STEEL, R.C.D. y J.H. TORRIE. 1960. Principles and procedures of statistics. McGraw Hill, N.Y., USA.