YEMA DE HUEVO DESECADA COMO CRIOPROTECTOR ALTERNATIVO DEL SEMEN OVINO

Montero N.; Cortés S.; Tomé A.; Vázquez I.
Area de Reproducción Animal. CIT/INIA
Ctra. de La Coruña Km 5,900. 28040 Madrid.

INTRODUCCION

La metodología para la congelación del semen tanto de morueco como de otras especies, implica la utilización de agentes crioprotectores. Los más comunmente empleados son glicerol y la yema de huevo (crioprotectores interno y externo de la membrana, respectivamente). Actualmente se emplea yema de huevo de gallina; sin embargo, la raza, así como la alimentación de las ponedoras, influyen en las propiedades crioprotectoras, y el tiempo transcurrido entre la puesta y utilización, no debe superar los 4 días, sobre todo en la época estival.

La casa SIGMA incluye en su catálogo un producto denominado EGG YOLK, chicken dried (nº de catálogo E-0625), conservable a 5°C. Nuestro objetivo fue comparar la eficacia crioprotectora del 10% de yema de huevo natural, frente a distintas concentraciones (10, 15 y 20%) de yema de huevo desecada. En ambos casos se adicionó 4% de glicerol y como diluyente base se empleó el TesT-Glucosa (Salamon y Ritar, 1982). En el estudio se consideraron los parámetros de motilidad individual, prueba de endósmosis y normalidad acrosómica tanto en semen refrigerado como descongelado.

MATERIAL Y METODOS

Para llevar a cabo la experiencia se utilizó un diluyente base formado por TesT-Glucosa al que se adicionó el 4% de glicerol. En el control se añadió 10% de yema de huevo de gallina, mientras que en el estudio, añadimos 10, 15 y 20% de yema de huevo liofilizada al mismo diluyente base.

El semen empleado procede de 6 moruecos adultos (3 de raza Merina y 3 de raza Manchega) de edades comprendidas entre 5-7 años, mantenidos en régimen de semiestabulación pertenecientes al Area de Reproducción Animal del CIT/INIA de Madrid.

El semen se recogió mediante vagina artificial (VA). Los moruecos se mantuvieron en un régimen sexual de una recogida semanal, obteniéndose un eyaculado por animal. Tras la recogida se realizó la contrastación seminal considerando los siguientes parámetros: volumen, motilidad masal e individual y concentración. Finalizada la contrastación seminal, de la muestra original se separaron 4 alícuotas a las que se añadió, en proporción 1:6, la cantidad suficiente de los diluyentes objeto de estudio y control. Seguidamente las muestras de semen diluido fueron refrigeradas a una velocidad de 0,14°C/minuto hasta alcanzar los +5°C. Alcanzada esta temperatura se congelaron en pajuelas de 0,25 ml. a una altura de 5 cm. sobre el nivel de nitrógeno líquido. Transcurridos 10 minutos, las pajuelas se sumergieron en nitrógeno líquido donde se conservaron durante una semana. Cada experimento se repitió 15 veces con el objeto de llevar a cabo un análisis estadístico.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en el estudio comparativo de la yema de huevo natural frente a distintas concentraciones de yema desecada, aparecen reflejados en las tablas I, II y III.

En la tabla I se muestran las medias obtenidas en un estado de precongelación considerando los parámetros: porcentaje de espermatozoides vivos (%vivos) y calidad de movimiento (C.Mov.) a

dos tiempos: 0 horas y 2,5 horas de conservación.

Tabla I.- Medias obtenidas, a 0 (inicial) y 2,5 horas (precongelación), en los parámetros porcentaje de vivos y calidad de movimiento.

	0 horas		2,5 horas	
	%vivos	C. Mov.	%vivos	C.Mov
Y.Nat.	67,69	3,90	65,0	3,64
Y10%	73,84	4,07	68,21	3,75
Y15%	72,14	3,96	67,14	3,63
Y20%	71,92	3,82	63,57	3,60

De la comparación de medias del porcentaje de vivos entre el control y los distintos diluyentes en estudio, no obtenemos en ningún momento diferencias significativas ($p > 0,05$). A tiempo 0, el valor más alto se obtiene con la yema 10%, y el menor con el control. A las 2,5 horas encontramos un descenso generalizado del porcentaje de vivos,manteniéndose el valor más elevado en la yema 10%, mientras que el más bajo pasa a ser el obtenido con la yema 20%.

El parámetro calidad de movimiento, presenta el valor más alto a tiempo 0 en la yema 10% y el más bajo en la yema 20%. A las 2,5 horas (+5ªC), descienden todos los valores aunque el mejor sigue siendo el obtenido con la yema 10% y el peor con el diluyente en el que usamos la yema al 20%.

Tabla II.- Medias obtenidas en estado de postcongelación a tiempos 0, 2 y 24 horas, en los parámetros porcentaje de vivos y calidad de movimiento.

	0 horas		2 horas		24 horas	
	%vivos	C.Mov.	%vivos	C.Mov.	%vivos	C.Mov.
Y.Nat.	16,97	2,54	17,62	2,25 ab	11,71	1,50
Y10%	19,06	2,60	16,25	2,14	9,0	1,50
Y15%	16,60	2,50	16,87	1,95 a	10,71	1,50
Y20%	20,35	2,43	16,25	2,0 b	10,87	1,50

El estudio comparativo del porcentaje de vivos (%vivos) a tiempos 0, 2 y 24 horas no muestra tampoco diferencias significativas ($P > 0,05$). Inmediatamente despues de la descongelación (tiempo 0) el valor más alto es el obtenido por el diluyente con yema al 20%, mientras que el más bajo aparece en el diluyente con 15% de yema.A las 2 horas hay un descenso del porcentaje de vivos para los 4 diluyentes empleados, siendo al valor más elevado el del control y el más bajo el los diluyentes con 10 y 20% de yema desecada. A las 24 horas se observa un descenso más acusado, siendo el valor mejor el obtenido con el control y el peor el correspondiente al diluyente con 10% de yema desecada.

El análisis comparativo de la calidad de movimiento (C.Mov) entre el control y los diluyentes con yema al 15 y 20% (a,b) muestra una diferencia significativa ($P < 0,05$), observándose un mejor comportamiento de los espermatozoides en el diluyente control.En el resto de los tiempos estudiados,

no se aprecian diferencias significativas ($P > 0,05$).

Tabla III.- Medias obtenidas en la prueba de endósmosis y normalidad acrosómica, en estados de pre y postcongelación.

	Precongelación		Postcongelación	
	E+(%)	NAR(%)	E+(%)	NAR(%)
Y. Natural	37,69	88,23	24,60	52,80
Y10%	35,38	88,23	20,20	54,0
Y15%	36,85	88,28	22,0	53,20
Y20%	34,21	88,76	21,61	55,8

En el estudio de medias para la prueba de endósmosis (E+) en estados de pre y postcongelación, no se observan diferencias significativas ($P > 0,05$). Tanto en estados de pre como postcongelación, los mejores resultados se obtienen en el control; mientras que el peor resultado en precongelación es el obtenido con 20% de yema y en postcongelación con el 10% de yema.

En cuanto a la normalidad acrosómica (NAR), en estado de precongelación el mejor comportamiente de los espermatozoides se obtiene con 20% de yema, y el peor con el control y 10% de yema. En estado de postcongelación, el mejor comportamiento es para 20% de yema y el peor para el control. En ambas pruebas se observa un descenso generalizado, en los valores obtenidos postcongelación frente a los observados en estado de precongelación.

Otros estudios con yema de huevo desecada fueron llevados a cabo por Graham (1964), aplicando este producto a estudios sobre la fertilidad de espermatozoides en ganado bovino, obteniendo porcentajes de concepción superiores que al emplear un medio con citrato y yema. Hasta ahora se trata de un producto poco empleado, por lo que no ha sido posible encontrar más estudios sobre su eficacia.

CONCLUSIONES

Analizados los resultados obtenidos para los parámetros considerados en los diluyentes en estudio, no se obtienen diferencias significativas. Por tanto, la yema de huevo desecada se presenta como una alternativa válida para ser utilizado como crioprotector en la congelación de semen ovino.

BIBLIOGRAFÍA

Salamon S. y Ritar AJ. (1982)."Deep freezing of Angora goat semen: effectes of diluent composition and method and rate of dilution on survival of spermatozoa". Aust. J. Biol. Sci. 35:295-303.

García Artiga C., Vázquez I., Garde J., Martinez E. (1993)."Estudio in vitro de la viabilidad del semen congelado de morueco". Vol.8 (1).

Rajamannan A.H.J., Graham E.F., Smith F. (1964). "The effect of a new extender incorporating dried egg yolk, on the fertility of bovine spermatozoa". V° Congresso Internazionale per la animale e la fecondazione artificiale. Scientific Journal n° 5403, Minnesota Experimental Station.

Phillips P.H.(1930)."The preservation of spermatozoa with egg yolk". J. Biol Chem.,130:415.

Kampschmidt R.F., Mayer D.T., Herman H.A. (1953)."Lipid and lipoprotein constituents of egg yolk in the resistance and storage of bull spermatozoa". J. Diary Sci.,36:733-742.