INFLUENCIA RACIAL Y DEL PLASMA SEMINAL EN LA CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN DE GALLOS (*Gallus gallus domesticus*)

C. Castaño[1], S. Romo[1,3], A. Toledano-Díaz[1], M.G. Gil [2], M.C. Esteso[1], A. López.-Sebastián[1], J. Santiago-Moreno[1]

[1]Dpto. Reproducción Animal, INIA. Avd. Puerta de Hierro s/n. Km 5,9. 28040 Madrid. España
[2]Dpto. Mejora Genética Animal, INIA. Avd Puerta de Hierro s/n. Km 7,5, 28040 Madrid.
[3]Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM. México, cristina.castano@inia.es

INTRODUCCIÓN

El plasma seminal presenta componentes nutritivos y con propiedades tampón, que neutralizan diferentes productos finales del metabolismo de los espermatozoides (Etches, 1996), además de tener un papel importante en la funcionalidad y fertilidad del esperma. A diferencia del plasma seminal en mamíferos, donde existen varios estudios describiendo las distintas proteínas del mismo (Novak et al. 2010; Starita-Geribaldi et al. 2001), en aves son escasos los trabajos que describen los componentes del plasma seminal (Marzoni et al. 2013; Al-Aghbari et al. 1992), habiendo importantes incógnitas en cuanto a su total composición y su función. Por otra parte, se sabe que en el plasma seminal pueden existir factores estimuladores de la motilidad (Ashizawat and Wishart, 1987); puede ser hipotetizado que variaciones en las características del plasma seminal sean claves en diferencias raciales de los parámetros de motilidad (Prieto et al. 2011). Por otro lado, en mamíferos, se ha apuntado la existencia de componentes del plasma seminal que pueden favorecer (Caballero et al., 2012) o afectar negativamente (Coloma et al. 2009) a la criopreservación espermática. En gallos, la influencia del plasma seminal en la criopreservación seminal no ha sido previamente establecida, aunque se han descrito posibles efectos negativos, in vitro, del plasma seminal sobre los fosfolípidos de la membrana del espermatozoide en semen refrigerado de pavo (Douard et al. 2003). El objeto del presente trabajo fue evaluar la influencia del componente racial y de la presencia de plasma seminal en la viabilidad espermática durante el proceso de congelación-descongelación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 120 gallos (12 por raza) de 1 año de edad, de las razas autóctonas españolas: Española Cara Blanca, Andaluza Azul, Castellana Negra, Andaluza Perdiz, Castellana Codorniz, Castellana Silver, Prat Leonado, Prat Blanca, Franciscana, Pardo de León, Vasca Roja Barrada y Villafranquina Roja, pertenecientes al Programa de Conservación de Gallinas del INIA. Los gallos se mantenían en condiciones climáticas y de fotoperiodo natural. La alimentación consistía en una dieta comercial que contenía 16% proteína cruda, 2700 kcal energía metabolizable/kg, 3,5% Ca y 0,5% P disponible. Durante un periodo de 6 meses (junio a noviembre), dos veces por semana, se recogieron muestras de semen obteniendo un pool de cada raza mediante masaje abdominal (Burrows y Quinn, 1937). Las muestras se diluyeron 1:1 (vol:vol) a temperatura ambiente con medio de conservación Lake-Ravie (Lake and Ravie, 1984) y conservadas a 5ºC durante 45 min. hasta el análisis. Se evaluó la viabilidad espermática mediante microscopía de fluorescencia con ioduro de propidio y SYBR-14 (Chalah y Brillard, 1998). Una vez realizado el test de viabilidad, cada pool se dividía en dos alícuotas; una de ellas se congelaba con el plasma seminal, y la otra alícuota se sometía a un lavado con el diluyente Lake-Centri a 600g durante 10 min (Abouelezz et al., 2015) para retirar el plasma seminal, antes de la congelación. La congelación se realizó utilizando glicerol como crioprotector y envasado en pajuelas, según la técnica descrita por Khaled et al. (2015). Tras la descongelación a 5ºC durante 3 min. se volvió a evaluar el porcentaje de espermatozoides viables. La influencia del componente racial y de la presencia del plasma seminal en la viabilidad espermática se analizó mediante ANOVA y t –test. Para evitar la influencia del efecto del lavado seminal, en el análisis

estadístico se incluyó la diferencia entre los valores de viabilidad en fresco/centrifugado y tras la descongelación.

RESULTADOS Y DISCUSION

En semen fresco no existían diferencias significativas en la viabilidad espermática entre las diferentes razas. Los valores de viabilidad a la descongelación, en las muestras congeladas con plasma, fueron mayores ($P<0,05$) en todas las razas con respecto a las muestras sin plasma (Figura 1). Este resultado se pudo deber a que la centrifugación determinó una alteración en los parámetros de viabilidad. La respuesta a la congelación, en muestras sin plasma seminal, no mostró un efecto del componente racial. Sin embargo, en las muestras con plasma seminal se detectó una influencia de la raza ($P<0,05$), siendo la que mejor respondía a la congelación la Prat Blanca, frente al Pardo de León, Andaluza Perdiz, Franciscana y Española Cara Blanca. En el otro extremo, la raza que respondió peor a la congelación, con presencia de plasma seminal, fue la Andaluza Perdiz ($P<0,05$) con respecto al Pardo de León, Castellana Codorniz, Franciscana y Castellana Negra. Los resultados sugieren una influencia del plasma seminal, variable según la raza, en la viabilidad espermática tras el proceso de congelación-descongelación, mejorando la viabilidad espermática en el caso de la Prat Blanca y produciendo un efecto negativo en la Andaluza Perdiz.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Aghbari A., Engel, Harold N., JR, Froman, DP. 1992. Biology of Reproduction 47: 1059-1063 • Burrows, WH., Quinn, JP. 1937. Poult. Sci. 16: 19–24 • Caballero, I. Parrila, I., Almiñana, C., del Olmo D., Roca, J., Martinez, EA., Vázaue, JM., 2012. Reprod Dom Anim 47: 12-21 • Chalah, T., Brillard, JP, 1998. Theriogenology 50: 487-493 • Etches, R.J., 1996. Cab International, Wallingford; 1996: 221-246 • Abouelezz, FMK., Castaño, C., Toledano-Díaz, A., Esteso, MC., López-Sebastián, A., Campo, JL ., Santiago-Moreno, J. 2015. Reprod Dom Anim 50: 135–141 • Coloma, MA., Toledano-Díaz, A., López-Sebastián, A., Santiago-Moreno, J. 2010. Theriogenology 73: 900-908 • Prieto, MT., Campo, JL., Santiago-Moreno, J. 2011. Poult. Sci 90: 2845-2854 • Marzoni, M., Castillo, A., Sagona, S., Citi, L., Rocchiccioli, S., Romboli, I., Felicioli, A. 2013. Animal Reproduction Science 140: 216-223 • Novak, S., Ruiz-Sanchez, A., Dixon, WT., Foxcroft, GR., Dyck, MK., 2010. J. Androl. 31: 188-200 • Starita-Geribaldi, M., Poggioli, S., Zucchini, M., Garin, J., Chevallier, D., Fenichel, P., Pointis, G., 2001. Mol. Hum. Reprod. 7: 715-722 • Douard, V., Hermier, D., Labbe, C., Maagistrini, M., Blesbois, E. 2005. Theriogenology 63: 126-137 • Ashizawat, K., Wishart, GJ. 1987. J. Reprod. Fert. 81: 495-499 • Lake, PE., Ravie O., 1984. Br Poult Sci 25: 145–150.

Agradecimientos: Trabajo financiado por el proyecto europeo 677353 IMAGE-H2020

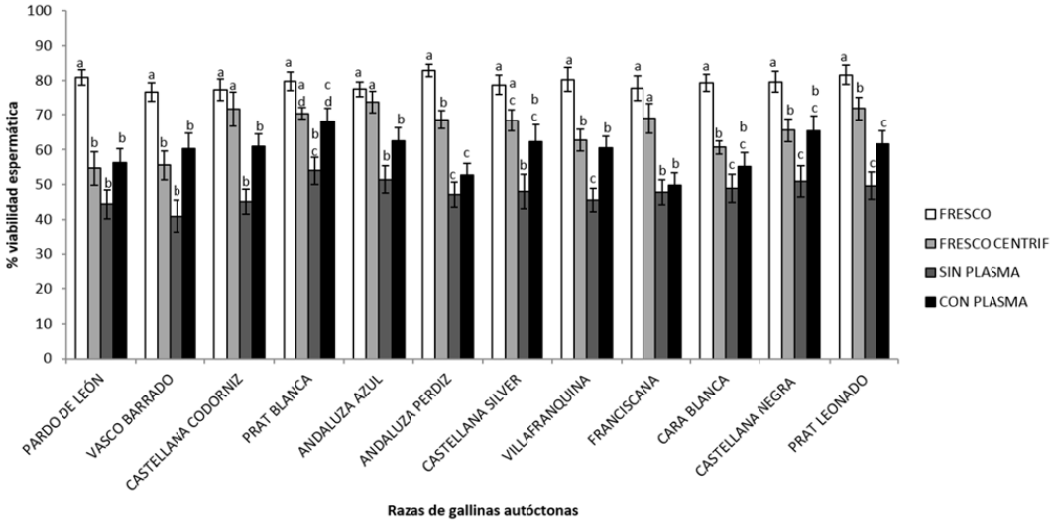


***Figura 1**. Porcentaje de viabilidad espermática en el semen fresco, fresco centrifugado, congelado/descongelado sin plasma seminal, y congelado/descongelado con plasma seminal, en las diferentes razas autóctonas de gallos. Diferentes letras (a-d) entre columnas para cada raza indica diferencias significativas para P<0,05.*

INFLUENCE OF BREED AND SEMINAL PLASMA ON CRIOPRESERVATION OF ROOSTER (Gallus gallus domesticus) SPERM

ABSTRACT It is not well known the role of seminal plasma on freezing-thawing process in roosters (*Gallus gallus domesticus)*. The aims of the present study were conducted to evaluate the influence of breed and the presence of seminal plasma on sperm viability of fresh and frozen-thawed sperm. We used pool semen samples from 12 Spanish chicken breeds (Black-Barred Andaluza, Black-Red Andaluza, Blue Andaluza, Black Castellana, Buff Prat, White Prat, Red-Barred Vasca, Red Villafranquina, Birchen, Leonesa, White-Faced Spanish, Quail Castellana and Quail Silver Castellana). Sperm viability was assessed by Propidium iodide and SYBR-14 as fluorochromes. Ours findings didn't reveal significant differences in fresh sperm viability among breeds. There weren't differences among breeds in freezing-thawing response of samples without seminal plasma. Sperm samples with seminal plasma returned highest viability data in White Prat. In contrast, the presence of seminal plasma returned lowest results in Black-Red Andaluza.

Keywords*:* Rooster, seminal plasma, cryopreservation, sperm viability