

EVALUACIÓN DE LA FERTILIDAD DEL SEMEN DE GUAJOLOTE NATIVO CRIOPRESERVADO EN UN DILUYENTE COMERCIAL CON GLICEROL

FERTILITY ASSESSMENT OF NATIVE TURKEY SEMEN CRYOPRESERVED IN A COMMERCIAL EXTENDER WITH GLYCEROL

Ochoa F.^{1*}, Val D.¹, Juárez A.¹, Tena J.², Conejo J.²

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Km 9.5 carretera Morelia-Zinapécuaro, Michoacán, México. *fernando_8a60@hotmail.com

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Km 9.5 carretera Morelia-Zinapécuaro, Michoacán, México.

Keywords: Cryopreservation; *Ex-situ* conservation; Native turkey; Artificial insemination.

Palabras clave: Criopreservación; Conservación *ex situ*; Guajolote nativo; Inseminación artificial.

Abstract

Considering the decreasing numbers of native farm animal breeds around the world, semen cryopreservation has become one of the alternatives for *ex-situ* conservation of native genetic resources. The objective of this study was to evaluate the fertilisation capacity of turkey sperm cryopreserved using a commercial extender added with glycerol in artificially inseminated native turkey hens. Twenty young hens were random distributed in two groups of ten animals (Treatment and Control). Control group hens were inseminated with fresh semen at 150×10^6 concentration, meanwhile the Treatment group hens were inseminated using frozen semen at 300×10^6 concentration every seven days during seven weeks. The fertility rate was estimated by embryonic diagnosis at 28 days of artificial hatching. Fresh semen observed the best fertility rate (69.81%) ($P < 0.10$); whereas, cryopreserved semen observed a fertility rate of 30.05%. Fertility rate observed significant differences ($P < 0.10$) at 2, 3 and 4 days post-insemination with 40.60%, 51.80% and 49.30%, respectively. These results suggest to inseminate turkey hens every four days in order to obtain higher fertility rates. Therefore, AI in native turkey hens is possible using cryopreserved semen with glycerol as an alternative to be used in *ex-situ* conservation of this important Mexican genetic resource.

Resumen

La criopreservación de semen aviar es una biotecnología de reproducción asistida, que ante la desaparición de razas domésticas locales, se ha utilizado para la conservación *ex situ* de los recursos genéticos nativos. Existe poca investigación sobre la criopreservación del semen de pavo y los protocolos de congelación desarrollados hasta la fecha, no han obtenido resultados reproducibles y comparables con los obtenidos con semen fresco (85 – 90 %). Respecto al guajolote nativo, no hay estudios donde se haya aplicado esta biotecnología para su conservación, ya que dio origen a las variedades o líneas genéticas de pavos de doble pechuga que se explotan de forma intensiva en la actualidad. El objetivo del presente trabajo fue determinar la tasa de fertilidad del espermatozoide del guajolote nativo, criopreservado en un diluyente comercial con glicerol en guajolotas nativas inseminadas artificialmente. Para lograr este objetivo, se formaron dos grupos aleatorios de 10 hembras jóvenes cada uno; las hembras testigo se inseminaron con semen fresco y las del tratamiento, con semen congelado-descongelado, se inseminaron cada 7 días, durante 7 semanas, para determinar la tasa de fertilidad mediante diagnóstico embrionario posterior a los 28 días de incubación artificial. La información generada se analizó usando tabulaciones cruzadas y pruebas de Chi-Cuadrada, empleando para tal efecto el programa SPSS® versión 16. La fertilidad del semen fresco (69,81%) fue significativamente superior ($p < 0.10$) a la del semen criopreservado (30,05%). Sin embargo, las altas tasas de fertilidad necesaria para la producción comercial ($> 90\%$) no son obligatorias para el éxito de la criopreservación de espermatozoides de aves de corral con propósitos de conservación genética; la línea germinal de recuperación es factible con tasas de fertilidad modestas, siempre y cuando el porcentaje de nacimientos de huevos fértiles siga siendo alto. Por tanto, es posible la IA en guajolotas nativas con semen criopreservado con un diluyente comercial con glicerol, como una herramienta para la conservación de este recurso genético de México.

Introducción

La crío preservación de semen aviar es una biotecnología de la reproducción asistida, que ante la desaparición de razas domésticas locales, se ha utilizado para la conservación *ex situ* de los recursos genéticos nativos (Blesbois, 2006). Existe poca investigación sobre la criopreservación de semen de pavo y los protocolos de congelación desarrollados hasta la fecha, no han obtenido resultados reproducibles, ni han alcanzado los valores obtenidos con semen fresco (85 – 90 %). Respecto al guajolote nativo (GN), no hay estudios reportados donde hayan aplicado esta biotecnología, a pesar de ser un recurso genético local explotado ampliamente en las comunidades rurales de México, el cual ha representado un aporte alimenticio, económico y cultural (Aquino *et al.*, 2003). El objetivo del presente trabajo fue determinar la tasa de fertilidad del espermatozoide del GN criopreservado en un diluyente comercial con glicerol en hembras nativas inseminadas artificialmente.

Material y métodos

Se inseminaron 20 hembras jóvenes en edad reproductiva (32 semanas), distribuidas aleatoriamente en 2 grupos (grupo testigo y grupo tratado) de 10 hembras cada uno. Las hembras del grupo testigo se inseminaron con semen fresco diluido en el extensor Betsville Poultry Semen Extender II (BPSE II), a una concentración espermática de 150×10^6 . Las hembras del grupo tratado se inseminaron con semen congelado bajo un protocolo de congelación lento, a una concentración espermática de 300×10^6 . Inicialmente cada hembra se inseminó dos veces con un intervalo de 24 horas entre inseminaciones, y se re-inseminaron cada semana, durante 7 semanas. Los huevos se recolectaron 48 horas después de la primera inseminación, diariamente y se almacenaron por 7 días a 17 °C, para posteriormente introducirlos a una incubadora automática a 37,7 °C. Las cargas a la incubadora se realizaron cada semana para su desarrollo embrionario y así sucesivamente durante 7 semanas. Después de 28 días de incubación se determinó la tasa de fertilidad mediante la siguiente fórmula:

% Fertilidad = Huevos picados + Pavipollos nacidos + embriones muertos / Total de huevos introducidos a la incubadora X 100.

Se formuló un análisis de varianza para un diseño completamente al azar; se realizaron tabulaciones cruzadas y pruebas de Chi-Cuadrada. Empleándose para tal efecto el programa SPSS® versión 16.

Resultados y discusión

En la Tabla I se observa el porcentaje de fertilidad del semen congelado y del semen fresco durante las 7 semanas de inseminación; donde se puede apreciar que la fertilidad del semen fresco (69,81%) fue significativamente superior ($p < 0,10$) a la del semen congelado (30,05%). Este último valor, es similar al reportado por otros autores en pavos de línea comercial (Macpherson *et al.* 1969; Blesbois, *et al.* 2006).

Tabla I. Fertilidad del semen fresco y congelado durante siete semanas de IA (*Fertility of fresh and frozen semen AI for seven weeks*)

Semana	Tratamiento (%)	
	S. Fresco (huevos fértiles/total de huevos incubados)	S. Congelado
1	68,80 ^a (11/16)	30,40 ^b (7/23)
2	77,30 ^a (17/22)	31,20 ^b (10/32)
3	73,50 ^a (25/34)	32,70 ^b (10/28)
4	77,40 ^a (24/31)	32,10 ^b (9/29)
5	61,90 ^a (13/21)	25,70 ^b (9/35)
6	64,70 ^a (10/16)	30,80 ^b (7/25)
7	57,90 ^a (11/19)	28,60 ^b (6/21)
Total	69,81 (111/159)	30,05 (58/193)

En todas las semanas se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,10$)

Al analizar los datos de fertilidad por día post-IA durante siete semanas (Tabla II), se encontraron diferencias significativas ($p < 0,10$) para los días del semen congelado, donde se muestra que la tasa de fertilidad más alta se encuentra en los días 2, 3 y 4 post-IA, con tasas de fertilidad de 40,60%, 51,80% y 49,30% respectivamente. La declinación de la fertilidad con semen congelado después del día 4 post-IA, podría deberse a la pérdida de la capacidad fecundante del espermatozoides después de ser expuesto al proceso de congelación (Blesbois, *et al.*,

2006). Estos resultados sugieren inseminar cada 4 días al usar semen congelado, para obtener tasas de fertilidad alrededor de 50%.

Tabla II. Porcentajes de fertilidad por día post-IA en pavas durante siete semanas (*Fertility rates for post-IA pavas day for seven weeks*)

Días Pos-IA	Tratamiento (%)	
	S. fresco (huevos fértiles/total de huevos incubados)	S. congelado
1	55,00 ^a (11/20)	13,60 ^b (3/22)
2	72,40 ^a (21/29)	40,60 ^c (12/30)
3	84,00 ^a (21/25)	51,80 ^c (18/35)
4	80,90 ^a (17/21)	49,30 ^c (13/26)
5	78,20 ^a (18/23)	21,40 ^b (6/28)
6	63,10 ^a (12/19)	13,80 ^b (4/29)
7	50,00 ^a (10/20)	13,60 ^b (3/22)

Diferencias entre tratamientos y días post-inseminación del semen congelado ($p < 0,10$)

Conclusiones

Es posible la criopreservación del semen de GN empleando un diluyente comercial, y se podrá utilizar como una herramienta para su conservación *ex situ* e *in situ*, ya que las tasas de fertilidad necesaria para la producción comercial (> 90%) no son obligatorias para el éxito de la criopreservación de semen de aves de corral con propósitos de conservación.

Bibliografía

- Aquino, R., Arroyo, L., Torres, H., Riestra, D., Gallardo, L., López, Y. (2003). El guajolote criollo (*Meleagris gallopavo L.*) y la ganadería familiar en la zona centro de Veracruz. *Técnica Pecuaria México*. 2: 165-173.
- Blesbois, E. (2006). Semen cryopreservation for ex situ management of genetic diversity in chicken: creation of the French avian criobank. *Poultry Science*. 86: 555-561.
- Blesbois, E., Dubos, F., Grasseau, I., Richrad, M., Roman, Y. (2006). Cryopreservation of avian spermatozoa and predictors of ability to freezing cold shock and freezing injury. *Reproduction Domestic Animal*. 1: 95-104.
- Macpherson, J., Chatterjee, S., Friars, G. (1969). Frozen turkey semen. *Canadian Journal Compend Medical*. 33: 37-38.