

## LA ADICIÓN DE GLICEROL Y EL ENVASADO A TEMPERATURA AMBIENTE NO AFECTAN A LA CALIDAD DEL SEMEN DESCONGELADO DE CAPRINO

Esteve<sup>1,3\*</sup>, I.C., Pérez-Fuentes<sup>1,3</sup>, S., Martínez-Talaván<sup>1,3</sup>, A., Solaro<sup>1</sup>, L., Mocé<sup>2,3</sup>, M.L., Gómez<sup>1,3</sup>, E.A. y Mocé<sup>1,3</sup>, E.

<sup>1</sup>CITA-IVIA. Segorbe (Castellón); <sup>2</sup>PASAPTA, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Facultad de Veterinaria. Alfara del Patriarca (Valencia); <sup>3</sup>Unidad Asociada UCH-CEU – IVIA

\*esteve\_in@gva.es

### INTRODUCCIÓN

El protocolo de congelación de semen de caprino consta de varias etapas. Entre ellas se encuentran la adición de crioprotectores tras la refrigeración a 4 °C para minimizar la toxicidad del crioprotector, el equilibrado a 4 °C para mejorar la estabilización de membranas, y el envasado a 4 °C. Pero el equilibrio prolonga la duración del proceso y la adición del crioprotector y el envasado requieren que el técnico trabaje a baja temperatura, existiendo el riesgo del calentamiento de la muestra al manipular las pajuelas. Por ello, el objetivo de este estudio fue comparar el protocolo de congelación estándar con procesos alternativos en los que la adición del glicerol (G) y el envasado se realizan a temperatura ambiente, antes de comenzar la etapa de refrigeración a 4 °C.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron eyaculados (n=19) de 8 machos cabríos adultos de raza Murciano Granadina, alojados en el Centro de Investigación y Tecnología Animal (CITA-IVIA, Segorbe, Castellón). Cada eyaculado se dividió en tres alícuotas y se congelaron con diluyente leche desnatada-glucosa (0,2%; p:v)-G (7%; v:v) y tres protocolos distintos. Una se congeló con el protocolo estándar (C; refrigeración a 4 °C en 90 min, adición del G a 4 °C, equilibrado durante 90 min y envasado a 4 °C y congelación en vapor de nitrógeno), en las otras dos la adición de G y el envasado se realizaron a 20-22 °C y después se refrigeraron a 4 °C (Prueba, P). En una de ellas se mantuvo la fase de equilibrado después de refrigerar (Prueba 1; P1) y en la otra se eliminó esta etapa (Prueba 2; P2). Se analizaron los móviles totales (MT, %) y progresivos (MP, %), velocidad curvilínea (VCL,  $\mu\text{m}/\text{sec}$ ), espermatozoides con membrana plasmática y acrosómica intactas (LAI, %) y espermatozoides vivos con mitocondrias funcionales (LMB, %) después de refrigerar y después de congelar-descongelar (protocolos de Mocé *et al.*, 2022). En las muestras refrigeradas, se analizaron los datos con la prueba t para muestras apareadas, comparando en el mismo eyaculado los 2 tipos de procesado (adición de glicerol y envasado a 20-22 °C o a 4 °C). Para los datos de calidad post-descongelación se realizó un ANOVA para las variables normales (según los tests Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov) comparando los tres protocolos y un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis para las variables no normales. Se usó el paquete estadístico Statgraphics Centurion XIX.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La calidad de las muestras después de refrigerar fue similar ( $p>0,05$ ): MT ( $73\% \pm 2,44$  vs.  $69\% \pm 2,91$ ), MP ( $62\% \pm 3,21$  vs.  $55\% \pm 3,29$ ), VCL ( $127 \mu\text{m}/\text{sec} \pm 4,43$  vs.  $123 \mu\text{m}/\text{sec} \pm 4,13$ ), LAI ( $64\% \pm 2,37$  vs.  $60\% \pm 2,68$ ) y LMB ( $64\% \pm 2,38$  vs.  $59\% \pm 2,40$ ) para C y P, respectivamente. Los tres protocolos de congelación proporcionaron calidad similar: MT ( $44\% \pm 4,18$  vs.  $40\% \pm 4,28$  vs.  $40\% \pm 4,45$ ), MP ( $34\% \pm 4,40$  vs.  $28\% \pm 4,07$  vs.  $29\% \pm 4,07$ ), VCL ( $113 \mu\text{m}/\text{sec} \pm 5,43$  vs.  $115 \mu\text{m}/\text{sec} \pm 5,07$  vs.  $120 \mu\text{m}/\text{sec} \pm 5,82$ ), LAI ( $43\% \pm 3,35$  vs.  $46\% \pm 2,57$  vs.  $42\% \pm 3,43$ ) y LMB ( $41\% \pm 3,43$  vs.  $42\% \pm 2,93$  vs.  $39\% \pm 3,43$ ) para C, P1 y P2, respectivamente. Por tanto, la adición del G antes de la refrigeración a 4 °C no es nociva, al menos a la concentración utilizada. El envasado se puede hacer antes de refrigerar, mejorando las condiciones laborales de los técnicos y el equilibrado en esas muestras se puede eliminar (quizás porque se ha producido durante la fase de refrigeración), acortando 90 min el proceso.

### CONCLUSIÓN

Es viable añadir el glicerol y envasar el semen de caprino antes de refrigerar a 4 °C, y eliminar la fase de equilibrado en esas muestras sin perjudicar la calidad del semen congelado-descongelado.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Mocé, M.L., Esteve, I.C., Pérez-Fuentes, S., Gómez, E.A., Mocé, E. 2022. Front. Vet. Sci. 9: 867671.

**Agradecimientos:** Financiado por GVA-IVIA y cofinanciado por la UE a través del Programa Operativo FEDER de la Comunitat Valenciana 2021-2027 (proyecto AGROALIMVAL, IVIA-52201K), CIAPOT/2022/14, AGROALNEXT/2022/062 y AGROALNEXT/2022/063 y AMURVAL (contrato 71714).