

Título: OPTIMIZACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE ACONDICIONAMIENTO DEL SEMEN EQUINO PARA LOS PROCESOS DE CONSERVACIÓN SEMINAL

Nombre: GUTIERREZ CEPEDA, LUNA

Universidad: Universidad Complutense de Madrid

Departamento: ORGANO RESPONSABLE DEL POSGRADO

Fecha de lectura: 12/12/2013

Programa de doctorado: CIENCIAS VETERINARIAS - RD56

Dirección:

> **Director:** CONSUELO SERRES DALMAU

Tribunal:

> **presidente:** PEDRO LUIS LORENZO GONZALEZ

> **secretario:** ANA MARIA MAYENCO AGUIRRE

> **vocal:** CRISTINA ORTEGA FERRUSOLA

> **vocal:** Jordi Miró Roig

> **vocal:** ANTONIO GONZALEZ DE BULNES LOPEZ

Descriptores:

> CIENCIAS VETERINARIAS

El fichero de tesis ya ha sido incorporado al sistema

> <https://eprints.ucm.es/id/eprint/24898/>

Localización: E-PRINTS COMPLUTENSE

Resumen: Desde hace años en las técnicas de reproducción asistida humanas existen protocolos de procesamiento de semen para incrementar su calidad. En la industria reproductiva equina las técnicas de inseminación artificial se han desarrollado ampliamente, aunque el uso de semen criopreservado es menor que en otras especies debido a problemas de supervivencia espermática y variabilidad individual. Esta variabilidad también ha sido establecida entre razas. En general, sólo el 20-30% de los sementales producen un semen con buena capacidad de congelación el 40-60% con capacidad aceptable y un 20-30% producen semen que no es congelable. Estas limitaciones determinan que la inseminación artificial con semen congelado en el équido esté menos extendida que en otras especies y encontrar sistemas y procedimientos que permitan incrementar el número de sementales y eyaculados adecuados para refrigeración y/o congelación es una de las metas principales. La centrifugación coloidal es una técnica útil que ha demostrado mejorar la calidad seminal en diferentes especies animales, como los caballos, al seleccionar los mejores espermatozoides y eliminar agentes patógenos, células inflamatorias y espermatozoides muertos responsables de la liberación de especies oxígeno reactivas que disminuyen la calidad seminal. Sin embargo, los protocolos de centrifugación coloidal inicialmente recomendados por los fabricantes eran clínicamente difíciles de incorporar a las técnicas de procesamiento del

semen equino. Por ello, nuestro primer objetivo fue determinar el protocolo de procesado óptimo para adaptar su uso a la clínica reproductiva equina. Los protocolos propuestos resultaron ser tan eficientes en la mejora de la calidad espermática como el protocolo recomendado por la casa comercial, con la ventaja añadida de que estos son eran más económicos y sencillos de utilizar, además de compatibles clínicamente con las técnicas de procesado de semen equino. Una vez adaptados los protocolos de centrifugación coloidal a la clínica equina, comparamos el efecto de la centrifugación simple y coloidal sobre el semen fresco, observando que la centrifugación coloidal prolongó la longevidad del ADN espermático, aunque estas diferencias fueron sólo visibles tras la incubación de las muestras. Posteriormente comenzamos a evaluar la aplicación de esta técnica a los procesos de conservación seminal, evaluando el efecto de dos protocolos de centrifugación coloidal monocapa aplicados antes de la criopreservación. En estos estudios observamos como la aplicación de la centrifugación coloidal reducía el índice de fragmentación durante las primeras 4 h en el semen descongelado y como el diluyente InraFreeze se asoció a niveles de fragmentación del ADN menores que el diluyente BotuCrio a las 6 horas, y que los diluyentes Gent y BotuCrio a las 24 horas de incubación. A continuación, evaluamos la incorporación de la centrifugación coloidal monocapa antes de la criopreservación dentro de la *¿Prueba de Congelación¿*, valorando la influencia del tipo de centrifugación y del diluyente utilizado sobre la calidad seminal postdescongelación. Esta incorporación permitió incrementar del 35 al 71% el porcentaje de eyaculados disponibles para la congelación, duplicando el número de muestras criopreservadas. El uso de la centrifugación coloidal antes de la criopreservación permitió que a partir de eyaculados de mala calidad se obtuvieran dosis de semen descongelado de calidad similar a la de los eyaculados de buena calidad en fresco. El diluyente BotuCrio fue el que optimizó más eficientemente todos los parámetros de. Incluir nuevas técnicas de procesamiento de semen mediante coloides a los procesos de conservación, específicamente en la Prueba de Congelación, podría ayudar a optimizar los protocolos de criopreservación en esta especie, particularmente al enfrentarse a individuos o razas cuya baja calidad espermática inicial limita su inclusión en los programas comerciales de criopreservación.