

## EFFECTO DEL DILUYENTE, CONDICIONES DE CONSERVACIÓN DE LOS EYACULADOS Y METODOLOGÍA DE ANÁLISIS EMPLEADA, SOBRE LA CINÉTICA ESPERMÁTICA DETERMINADA MEDIANTE CASA, EN TOROS PURA RAZA WAGYU

Pérez-Garnelo<sup>1</sup>, S.S., Vázquez-Mosquera<sup>2</sup>, J.M., Garrafa-Barrios<sup>2</sup>, A., Fernández-Vega<sup>1</sup>, A., Fernández-Novo<sup>3</sup>, A., de Mercado<sup>1</sup>, E., Cáceres<sup>2</sup>, E., Heras-Molina<sup>1</sup>, A., Pesantez-Pacheco<sup>4</sup>, J.L., Villagrà<sup>5</sup>, A., Gardón<sup>6</sup>, J.C., Sebastian<sup>7</sup>, F. y Astiz<sup>1</sup>, S.

<sup>1</sup>INIA, Madrid. <sup>2</sup>UCM, Madrid. <sup>3</sup>Bovitecnia, Madrid. <sup>4</sup>UC, Ecuador. <sup>5</sup>IVIA, Valencia. <sup>6</sup>UCV, Valencia. <sup>7</sup>Cowvets SL, Valencia; sgarnelo@inia.es

### INTRODUCCIÓN

La raza japonesa Wagyu se cría de manera casi exclusiva en Japón, Australia y EE.UU. y de manera esporádica se exportan embriones y genética a diferentes partes del mundo. De este modo, la tasa de consanguinidad en rebaños de Wagyu, fuera de Japón, es elevada y por ello, los estudios sobre calidad espermática y conservación seminal en esta raza son fundamentales (Kanno *et al.* 2017). En esta línea, el diluyente, tiempo y temperatura de conservación de las muestras seminales hasta el análisis y metodología analítica utilizada, afectan a los resultados obtenidos en la cinética espermática determinada mediante CASA en eyaculados bovinos (García-Paloma *et al.*, 2016; Bompert *et al.*, 2019). El objetivo de este estudio fue comparar diferentes dispositivos (portaobjetos; cámaras Makler® e ISAS®D4C20), diluyentes (AndroMed®; BioXcell®), tiempo hasta el análisis (0h; 4h) y condiciones de mantenimiento (5°C; temperatura ambiente con AndroMed®) sobre los parámetros CASA de un mismo eyaculado de toros de esta raza tan escasa en España.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los eyaculados de cuatro toros Wagyu se obtuvieron mediante electroeyaculación en cuatro sesiones. Se realizaron las diluciones y se mantuvieron durante 4h a 5°C (-0.2°C/ min en 2h). Una alícuota adicional de AndroMed se mantuvo a temperatura ambiente (22-25°C). Los análisis CASA de cinética espermática de cada una de las muestras, se realizaron empleando porta y cubre (7µl), cámara Makler o cámara ISAS y se efectuaron a las 0 y 4h post-eyaculación con el software ISAS® (PROISER). El procesamiento estadístico de datos se efectuó mediante análisis de varianza de cuatro vías (SPSS®), incluyendo el efecto del toro, diluyente, temperatura de conservación y momento de análisis.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La motilidad total media fue de 83,2±17,8%, siendo la progresiva 37,2±14,6% y las velocidades curvilínea (VCL), lineal (VSL) y media (VAP): 127,13±35,6, 45,06±12,46 y 67,16±17,15 µm/s, respectivamente. El estudio evidenció diferencias estadísticamente significativas entre sementales ( $P<0,0001$ ) para todas las variables CASA. A su vez, la evaluación inmediata (0h) proporcionó valores significativamente mejores, respecto a las 4h y además, la variación cualitativa entre toros, en función del momento de análisis, fue estadísticamente significativa. El efecto del diluyente fue menos acusado aunque en general, el BioXcell proporcionó mejores resultados, alcanzando las diferencias significación estadística en alguno de los parámetros (LIN, STR, WOB, ALH y BCF). Por último, existieron diferencias significativas en todos los parámetros CASA evaluados según el dispositivo empleado para la grabación de imágenes de cinética espermática, obteniendo mejores resultados de motilidad total y velocidades (VCL, VSL y VAP) con la cámara Makler, mientras que el empleo de porta y cubre proporcionó valores mayores en los parámetros relacionados con la progresividad (motilidad progresiva, %LIN y %STR), obteniendo con la cámara ISAS valores intermedios.

### CONCLUSIÓN

Todos los factores estudiados tuvieron efecto sobre los parámetros cinéticos determinados mediante CASA. Estos resultados resaltan la necesidad de estandarizar y describir adecuadamente las condiciones de dilución y conservación de las muestras hasta la evaluación mediante CASA, así como el dispositivo empleado en las determinaciones, también en toros Wagyu.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bompert, D. *et al.*, 2019. Anim. Reprod. Sci. 209: 106169.
- García-Paloma, J.A. *et al.* 2017. Boletín ANEMBE. 115: 17-36.
- Kanno, C. *et al.* 2017. J. Vet. Med. Sci. 79: 1359-1365.

**Agradecimientos:** Estudio financiado por CDTI-IDI-20180254.