

## Utilización de leche descremada ultrapasteurizada como diluyente de semen refrigerado de burro, destinado a la inseminación de yeguas

Myriam Boeta\*  
Luis Zarco Quintero\*

### Abstract

The objective of this study was to evaluate the use of commercial ultrapasteurized non-fat milk as an extender for donkey semen to be used for the insemination of mares, and to compare it with Kenney's extender, which is widely used for equine semen. A total of 28 mares were used, and divided in two groups. Mares in the control group ( $n = 11$ ) were inseminated with semen prepared in Kenney's extender, while those in the experimental group ( $n = 17$ ) were inseminated with semen extended in ultrapasteurized non-fat milk. Semen from a single Kentucky donkey of proven fertility was used in all inseminations. All mares were monitored by ultrasonography in order to identify the optimum time for insemination. Pregnancy diagnosis was carried out 15 days after insemination by the ultrasonographic detection of an embrionic vesicle. Conception rate was 54.5% for the control group, and 76.5% for the mares inseminated with semen diluted in ultrapasteurized non-fat milk. Results of this study suggest that ultrapasteurized non-fat milk can be used to extend equine semen with comparable efficiency to that obtained with chemically defined extenders. The use of commercial milk offers considerable advantages: it is low priced, widely available, remains sterile until opened, and is ready to be used without any further preparation.

**Keywords:** SEMEN, ULTRAPASTEURIZED NON-FAT MILK, EXTENDER, KENNEY, DONKEY, ARTIFICIAL INSEMINATION

### Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar la utilización de leche descremada ultrapasteurizada comercial como diluyente para semen de burro, destinado a la inseminación artificial de yeguas, comparándolo con el diluyente de Kenney, ampliamente utilizado para la dilución de semen equino. Se utilizaron 28 yeguas divididas en dos grupos. Las yeguas del grupo testigo ( $n = 11$ ) fueron inseminadas con semen diluido en Kenney; las del grupo experimental ( $n = 17$ ) fueron inseminadas con semen diluido en leche descremada ultrapasteurizada. Todas las yeguas estaban clínicamente sanas y fueron evaluadas ultrasonográficamente para determinar el momento óptimo para la inseminación. Para todas las inseminaciones se utilizó semen de un solo burro, de raza Kentucky, cuya fertilidad había sido previamente probada. A los 15 días posinseminación se realizó diagnóstico de gestación para verificar la presencia de la vesícula embrionaria. El índice de concepción fue de 54.5% para el grupo testigo y de 76.5% para el grupo inseminado con semen diluido en leche descremada ultrapasteurizada. Los resultados del presente estudio sugieren que la leche descremada ultrapasteurizada comercial puede ser utilizada para la dilución de semen equino con resultados similares o mejores a los obtenidos con diluyentes químicamente definidos. La utilización de leche comercial tiene considerables ventajas, ya que es muy barata en comparación con otros diluyentes, se puede obtener en cualquier lugar, se mantiene estéril hasta ser abierta, y no requiere de ninguna preparación.

**Palabras clave:** SEMEN, LECHE DESCREMADA ULTRAPASTEURIZADA, DILUYENTE, KENNEY, BURRO, INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Recibido el 19 de febrero de 1999 y aceptado el 4 de noviembre de 1999.

\* Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

## Introducción

Se han utilizado numerosos diluyentes para la preservación de semen equino refrigerado. La mayoría se basan en leche o sus subproductos, a los que se le añaden otros ingredientes químicos para ajustar el pH y la osmolaridad, así como antibióticos para inhibir el crecimiento bacteriano.<sup>1-3</sup> En la década de los ochenta comenzó a utilizarse la leche fresca descremada para la preservación de semen equino refrigerado, en forma similar a como se ha usado en el caso de semen bovino.<sup>4</sup> Sin embargo, este tipo de leche tiene que ser previamente calentada a una temperatura de 92 a 95° C durante 10 minutos para inactivar la lactenina presente en la leche, la cual es tóxica para los espermatozoides equinos.<sup>5</sup>

En los últimos años el mercado de la leche ha evolucionado de tal forma que es muy fácil encontrar leche descremada ultrapasteurizada, esta última tiene la ventaja de que ha sufrido previamente un proceso de ultrapasteurización durante el cual se inactiva la lactenina, por lo que no es necesario calentarla antes de usarla para diluir el semen. Además, este tipo de leche no requiere refrigeración ni la adición de ningún otro nutriente, por lo que puede ser un diluyente sumamente práctico, listo para utilizarse tal como sale del envase. Sin embargo, no existe información publicada que demuestre que con este diluyente se obtenga una adecuada fertilidad con semen de equino, y menos aún con semen de burro.

## Lugar del estudio

El trabajo se realizó en San Andrés Tuxtla, Veracruz, México. Se utilizaron 28 yeguas vacías y clínicamente sanas, lo anterior se confirmó mediante palpación rectal y evaluaciones ultrasonográficas. A todas las hembras que presentaban un cuerpo lúteo funcional se les aplicaron 5 mg de prostaglandina F2 alfa natural.<sup>6\*</sup> Se detectaron calores y se realizó un seguimiento ultrasonográfico para inseminar a las yeguas en el momento más cercano posible a la ovulación.<sup>7</sup>

Al momento del estro las yeguas fueron asignadas al azar a uno de dos grupos. El primero (testigo) estaba constituido por 11 hembras inseminadas con semen de burro preparado en un diluyente ampliamente utilizado en equinos (diluyente de Kenney);<sup>8</sup> el segundo (experimental) fue formado con 17 yeguas inseminadas con semen de burro diluido con leche descremada ultrapasteurizada comercial.

## Colección, evaluación y dilución de semen

Se utilizó un solo semental para todas las inseminaciones. Este animal fue un burro de raza Kentucky, de 7 años de edad, en buen estado de salud y con fertilidad probada. Cuando se requería semen, se colectaba con una vagina artificial tipo Hannover y se realizaba la evaluación seminal. El promedio en el volumen del eyaculado fue de 70 ml. La concentración espermática del semental fue en promedio de 82 millones de espermatozoides/mlilitro, con una motilidad progresiva del 85%. El semen tuvo en promedio 10% de anormalidades totales, siendo todas secundarias.

Después de colectar el semen se separó el filtro del vaso colector y se procedió a la dilución. Las yeguas del grupo testigo fueron inseminadas con semen diluido con diluyente de Kenney, que contiene leche descremada en polvo, glucosa, bicarbonato de sodio y antibióticos, todo disuelto en agua bidestilada.<sup>6</sup> El grupo experimental fue inseminado con semen diluido con leche descremada ultrapasteurizada comercial.<sup>\*\*</sup> En ambos casos el diluyente se mantuvo en baño María a temperatura corporal (38 °C) hasta añadir el semen. El grado de dilución varió de acuerdo con la cantidad de yeguas que se tenían para inseminar en esa ocasión, pero regularmente fue de 2:1. Posteriormente el semen se colocó en un termo Equitainer,<sup>\*\*\*</sup> en el cual se enfrió y se mantuvo a una temperatura de 5 °C hasta la inseminación de las yeguas. El semen enfriado se utilizó durante las primeras 48 horas posteriores a su colección.

## Inseminación artificial

Todas las yeguas se inseminaron cuando presentaban un folículo con características preovulatorias.<sup>7</sup> Para el caso de que la yegua siguiera en calor al tercer día de inseminada se revisaba, y si no había ovulado, se volvía a inseminar. La inseminación artificial se realizó en forma transcervical con una pipeta de inseminación con funda protectora.<sup>8</sup> El volumen de inseminación fue de 10 ml, por lo que la dosis total inseminante fue aproximadamente de 400 millones de espermatozoides. En el día 15 posinseminación se realizó el diagnóstico de gestación por medio de ultrasonografía.

### Cuadro 1

PORCENTAJE DE CONCEPCIÓN A PRIMER SERVICIO AL INSEMINAR YEGUAS CON SEMEN DE BURRO, REFRIGERADO EN DOS DIFERENTES DILUYENTES

	<i>Kenney (n = 11)</i>	<i>Leche comercial (n = 17)</i>
Gestantes	6 (54.5%)	13 (76.5%)
Vacías	5 (45.5%)	4 (23.5%)

\* Lutalyse, UpJohn, México.

\*\* Leche San Marcos Light, Aguascalientes, Aguascalientes, México

\*\*\* Hamilton Thorn, Animal Reproduction Systems, California, USA.

En el Cuadro 1 se muestran los porcentajes obtenidos de yeguas gestantes con semen refrigerado de burro, utilizando los dos diluyentes. Como se puede observar, la fertilidad fue mayor cuando las yeguas se inseminaron con el diluyente experimental (76.5%) que al inseminarse con el diluyente de Kenney (54.5%), aunque los resultados no son significativos debido al bajo número de observaciones.

Los resultados obtenidos con el diluyente de Kenney en el presente trabajo son muy semejantes a los obtenidos con el mismo diluyente por Heiskanen *et al.*<sup>9</sup> quienes inseminaron a las yeguas una sola vez 36 horas antes de la ovulación, utilizando semen que había estado refrigerado hasta por 43 h, obteniendo 56% de concepción. Esto último indica que el semen de burro refrigerado tiene un comportamiento similar al del caballo cuando se utiliza el mismo diluyente. En otro experimento realizado en 48 yeguas inseminadas durante 3 ciclos, utilizando 3 diferentes diluyentes (leche descremada calentada, diluyente crema-gel, y una mezcla de la mitad del primer diluyente y la mitad del segundo diluyente) se obtuvieron porcentajes de gestación del 62.5%, 43.8% y 62.5%, respectivamente.<sup>10</sup> Lo anterior indica que resulta mejor utilizar la leche descremada, ya sea sola o combinada, que sólo utilizar la gel-crema. Otros autores obtuvieron resultados más favorables utilizando como diluyente la leche fresca descremada (previamente calentada), que el diluyente EZ-Mixin, evaluándolos mediante el porcentaje de recuperación de embriones.<sup>11</sup> En el presente trabajo los resultados obtenidos utilizando leche descremada ultrapasteurizada fueron superiores a los obtenidos con el diluyente de Kenney<sup>6</sup> y a los obtenidos por Squires *et al.*<sup>11</sup> con leche descremada calentada. Sin embargo, es necesario realizar más trabajos para aumentar el tamaño de la muestra y confirmar la aparente bondad de la utilización de la leche descremada ultrapasteurizada comercial, ya que su utilización es muy

práctica y podría convertirse en un diluyente de amplia utilización.

## Referencias

1. Jasko DJ, Bedford SJ, Cook NL, Mumford EL, Squires EL, Pickett BW. Effects of antibiotics on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa. *Theriogenology* 1993;40:885-893.
2. Pickett BW. Collection and evaluation of stallion semen for artificial insemination. In: McKinnon AO, Voss JL, editors. *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea and Febiger, 1993:746-754.
3. Jasko DJ, Hathaway JA, Schaltenbrand VI. Effect of seminal plasma and egg yolk on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa. *Theriogenology* 1992;37:1241-1252.
4. Thacker DL, Almquist JO. Diluters for bovine semen I. Fertility and motility of bovine spermatozoa in boiled milk. *J Dairy Sci* 1953;36:173-180.
5. Province CA, Squires EL, Pickett BW, Amann RP. Cooling rates, storages temperatures and fertility of extended equine spermatozoa. *Theriogenology* 1985;23:925-934.
6. Douglas RH, Ginther OJ. Effect of prostaglandin F2 alfa on length of diestrus in mares. *Prostaglandins* 1972;2:265-268.
7. Zarco L, Boeta M. Manejo del servicio para lograr óptima fertilidad. *Memorias del Segundo Curso de Reproducción Equina*; 1995 mayo 8-11; México D.F. México (DF): Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, 1995:7-14.
8. Kenney RM, Bergman RV, Cooper WL, Morse GW. Minimum contamination techniques for breeding mares: techniques and preliminary findings. *Proc Am Assoc Equine Pract* 1975;21:327-335.
9. Heiskanen ML, Huhtinen M, Pirhonen A, Maenpaa PM. Insemination results with stallion semen stored for two days. *Acta Vet Scand* 1994;35:257-262.
10. Householder DD, Pickett BW, Voss JL, Olar TT. Effect of extender, number of spermatozoa and HCG on equine fertility. *J Equine Vet Sci* 1981;1:9-13.
11. Squires EL, Amann RP, McKinnon AO, Pickett BW. Fertility of equine spermatozoa cooled to 5 or 20° C. *University College Dublin, Proceedings International Congress of Animal Reproduction and Artificial Insemination*; 1988 June 26-30; Dublin Ireland. Dublin (Ireland): 1988;3:297-299.