



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN DE CABALLO PERUANO DE
PASO UTILIZANDO GLICEROL, ETILENGLICOL,
DIMETILSULFÓXIDO Y DIMETILACETAMIDA COMO AGENTES
CRIOPROTECTORES”**

**Tesis para Optar el Título Profesional de:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**SERGIO ANTONIO VARGAS MENDIVIL
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

LIMA-PERÚ

2013



UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN DE CABALLO PERUANO DE
PASO UTILIZANDO GLICEROL, ETILENGLICOL,
DIMETILSULFÓXIDO Y DIMETILACETAMIDA COMO AGENTES
CRIOPROTECTORES”**

**Tesis para Optar el Título Profesional de:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**SERGIO ANTONIO VARGAS MENDIVIL
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

LIMA-PERÚ

2013

Esta meta no se hubiera podido cumplir sin el apoyo incondicional de mis padres y de mi gran hermano. Agradezco tanto a mi director como a mi asesor por darme la oportunidad de realizar este proyecto y a la Universidad Científica del Sur por la financiación del mismo.

También a las personas que de una u otra manera colaboraron y ayudaron para que todo se realizara de la mejor manera.

Nuevamente, gracias a todos.

En el Caballo Peruano de Paso no se conoce completamente el efecto de los diversos agentes crioprotectores durante el proceso de criopreservación de semen. Existen estudios que indican, que los espermatozoides de diferentes razas equinas, tienen distinta susceptibilidad a cada agente crioprotector. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de 4 agentes crioprotectores (glicerol, etilenglicol, dimetilsulfóxido y dimetilacetamida) durante y después del proceso de criopreservación de semen del Caballo Peruano de Paso. Para esto se utilizaron los mencionados agentes crioprotectores, a una concentración final de 4%, agregados en un dilutor compuesto por leche descremada, glucosa y yema de huevo. Los parámetros evaluados fueron motilidad progresiva, integridad funcional de membrana y viabilidad e integridad acrosomal, los cuales fueron medidos en el semen fresco, así como en el semen tratado, tanto al finalizar la curva de enfriamiento, como luego del proceso de criopreservación. Al término de la curva de enfriamiento, la dimetilacetamida y dimetilsulfóxido (ambos con 61%) tuvieron mejores resultados frente al glicerol y etilenglicol (57% y 42% respectivamente) para la motilidad progresiva. Por otro lado, para la integridad funcional de membrana, el de mejor resultado fue el glicerol con un promedio de 49%. En lo que respecta a la viabilidad e integridad acrosomal no hubo diferencias significativas entre los agentes crioprotectores. Al evaluar las muestras luego del proceso de criopreservación, los datos obtenidos mostraron que la dimetilacetamida fue superior al glicerol, etilenglicol y dimetilsulfóxido para la motilidad progresiva, teniendo un promedio de 57% frente a 16%, 12% y 11% de los demás respectivamente. Con respecto a la viabilidad e integridad acrosomal, el dimetilsulfóxido tuvo el menor resultado frente a los otros agentes crioprotectores, con un promedio de 10%. Finalmente, en cuanto a la integridad funcional de membrana, no hubo diferencias significativas entre los agentes crioprotectores utilizados. Por lo tanto, se concluye que, para una concentración final de 4%, la dimetilacetamida brinda una mejor protección al espermatozoide del Caballo Peruano de Paso durante el proceso de criopreservación en comparación con el glicerol, etilenglicol y dimetilsulfóxido.

Palabras Clave: Caballo Peruano de Paso, semen, criopreservación, agentes crioprotectores.

In the Peruvian Paso breed, the effects of different cryoprotective agents during the semen cryopreservation process have not been completely understood. There are studies which indicate that the semen of different horse breeds have different susceptibility to each cryoprotective agent. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of four cryoprotective agents (glycerol, ethylene glycol, dimethylsulfoxide and dimethylacetamide) during and after the cryopreservation process. The cryoprotectants mentioned above were used at a final concentration of 4%, added in an extender made of skim milk, glucose and egg yolk. Semen parameters evaluated were progressive motility, functional integrity of membrane, as well as acrosomal viability and integrity. These parameters were evaluated in raw semen, as well as in treated semen, at the end of the cooling curve and after cryopreservation. Our results indicate that there were significant differences at the end of the semen cooling curve, dimethylacetamide and dimethylsulfoxide (mean value of 61%) had better results than glycerol and ethylene glycol (mean values of 57% and 42% respectively) for progressive motility. Moreover, for functional integrity of membrane, glycerol presented the best result with an average of 49%. With respect to acrosomal integrity and viability, no relevant differences were obtained. After cryopreservation, the obtained data showed that progressive motility values obtained with dimethylacetamide were higher than ones obtained with glycerol, ethylene glycol and dimethylsulfoxide (mean values of 57%, 16%, 12% and 11% respectively). However, for acrosomal integrity and viability, dimethylsulfoxide had the lowest result, with a mean value of 10%. Finally, regarding functional integrity of membrane, no relevant differences were obtained. We can conclude that, for a final concentration of 4%, the dimethylacetamide provides better protection to the Peruvian Paso semen during the cryopreservation process, in comparison to glycerol, ethylene glycol and dimethylsulfoxide.

Key Words: Peruvian Paso Horse, semen, cryopreservation, cryoprotective agents.

I.INTRODUCCIÓN.....	1
II.REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1SEMEN EQUINO.....	4
2.2ESPERMATOZOIDE EQUINO.....	5
2.2.1Estructura.....	5
2.2.2Metabolismo.....	8
2.3CRIOPRESERVACIÓN.....	9
2.3.1Principios.....	9
2.3.2Factores que afectan la criopreservación.....	11
2.4DILUTORES PARA CRIOPRESERVACIÓN.....	17
2.5CRIOPROTECTORES.....	18
2.5.1Agentes no penetrantes.....	18
2.5.2Agentes penetrantes.....	20
2.6CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN EQUINO.....	22
III.MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
3.1.HIPÓTESIS.....	27
3.2.OBJETIVO.....	27
3.3.LUGAR Y ANIMALES.....	27
3.4.METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	27
3.5.PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	28
3.5.1Colección de semen.....	28
3.5.2Procesamiento de muestra.....	28
3.5.3Refrigeración.....	28
3.5.4Criopreservación.....	28
3.6.DILUTORES.....	29
3.6.1Dilutor base y para centrifugado (DBC).....	29
3.6.2Dilutor de congelamiento (DC).....	29
3.7.EVALUACIÓN DE SEMEN.....	30
3.7.1Concentración espermática.....	30
3.7.2Motilidad progresiva total.....	30
3.7.3Integridad funcional de membrana.....	30
3.7.4Viabilidad e integridad acrosomal.....	31

3.9.ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	33
IV.RESULTADOS.....	34
4.1EFECTO DE LOS AGENTES CRIOPROTECTORES SOBRE LAS VARIABLES EVALUADAS AL TÉRMINO DE LA CURVA DE ENFRIAMIENTO.....	35
4.2EFECTO DE LOS AGENTES CRIOPROTECTORES SOBRE LAS VARIABLES EVALUADAS POSTERIOR AL PROCESO DE CRIOPRESERVACIÓN.....	36
V.DISCUSIÓN.....	38
VI.CONCLUSIONES.....	43
VII.RECOMENDACIONES.....	43
VIII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
IX.ANEXOS.....	53