

R-127 Rev. Cientif. FCV-LUZ, XXXIII, SE, 250-251, 2023, <https://doi.org/10.52973/rcfcv-wbc101>**Exploring the effect of cold stress on the semen quality parameters of buffalo bulls****Karpenahalli Ranganatha Sriranga¹, Pawan Singh¹,
Ravinder Singh¹, Tejeshwari Satpute¹, Prince Vivek¹,
Tushar Kumar Mohanty¹, Pradeep Kumar²,
Ranjit Singh Kataria³, Megha Pande⁴, Manishi Mukesh³**

¹Livestock Production Management Division, ICAR-National Dairy Research Institute, Karnal, India. ²Division of Animal Physiology & Reproduction, ICAR-Central Institute for Research on Buffaloes, Hisar, India. ³Animal Biotechnology, ICAR-National Bureau of Animal Genetic Resources, Karnal, India. ⁴Division of Cattle Physiology & Reproduction, ICAR-Central Institute for Research on Cattle, Meerut, India

*Corresponding author: Karpenahalli Ranganatha Sriranga
(srirangabvsc@gmail.com).

ABSTRACT

The objective of the current study was to evaluate how buffalo bulls' semen quality is affected by cold stress. A total of 26 adult Murrah buffaloes were taken at the Artificial Breeding Research Centre, ICAR-National Dairy Research Institute, Karnal, India. Semen collection of these bulls was done twice during the peak of winter and spring seasons with overall average ambient temperature (°C) of 12.55±0.22 and 20.21±0.68,

Explorando el efecto del estrés por frío en los parámetros de calidad del semen de búfalos

**Karpenahalli Ranganatha Sriranga¹, Pawan Singh¹,
Ravinder Singh¹, Tejeshwari Satpute¹, Prince Vivek¹,
Tushar Kumar Mohanty¹, Pradeep Kumar²,
Ranjit Singh Kataria³, Megha Pande⁴, Manishi Mukesh³**

¹División de Gestión de la Producción Ganadera, ICAR-Instituto Nacional de Investigación Láctea, Karnal, India. ²División de Fisiología y Reproducción Animal, ICAR-Instituto Central de Investigación sobre Búfalos, Hisar, India. ³Biología Animal, ICAR-Oficina Nacional de Recursos Genéticos Animales, Karnal, India. ⁴División de Fisiología y Reproducción del Ganado, ICAR-Instituto Central de Investigación sobre el Ganado, Meerut, India

*Autor de correspondencia: Karpenahalli Ranganatha Sriranga
(srirangabvsc@gmail.com).

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar cómo la calidad del semen de los búfalos se ve afectada por el estrés por frío. Se escogieron un total de 26 búfalos Murrah adultos en el Centro de Investigación de Mejora Artificial del Instituto Nacional de Investigación Láctea ICAR, Karnal, India. La recolección de semen de estos toros se realizó dos veces du-

respectively, and blood was collected on the same day for biochemical analysis. Routine seminal attributes, viz., semen volume, sperm concentration, mass activity, individual motility, viability, acrosome integrity, and hypo-osmotic swelling test (HOST), were evaluated immediately after semen collection, and diluted semen was cryopreserved for further studies. Additionally, fresh and frozen sperm were subjected to flow cytometric analysis utilizing the Luminex MUSE Cell Analyzer and CytoFLEX, Beckman Coulter-Life Sciences, respectively. Sperm motility characteristics were assessed using a CASA (Hamilton Thorne IVOS II) with the help of eight chambered Leja slides. Further, serum hormones were assayed through the CMIA technique, and the antioxidant status of both serum and seminal plasma was done using standard protocol. Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics software (v.20.0). The THI during the winter and spring seasons was 54.85 ± 0.38 (THI range; 40.93 – 60.38) and 66.89 ± 1.03 (THI range; 60.04 – 77.99), respectively, while the cold stress index was 857.62 ± 8.89 and 793.08 ± 14.10 , respectively, demonstrating that the values varied significantly between the seasons ($p=0.001$). Fresh seminal attributes such as volume (2.86 ± 0.20 vs. 2.73 ± 0.15 ml, $p=0.616$), concentration (1181.94 ± 71.32 vs. $1115.10 \pm 78.34 \times 10^6/\text{ml}$, $p=0.529$), mass activity (2.28 ± 0.09 vs. 2.47 ± 0.08 , $p=0.094$), viability (81.95 ± 1.07 vs. $82.13 \pm 0.89\%$, $p=0.896$), and acrosome integrity (86.17 ± 0.86 vs. $87.53 \pm 0.75\%$, $p=0.239$), did not vary between the extreme winter and comfortable spring seasons. However, individual motility, HOST (66.75 ± 1.41 vs. $71.13 \pm 1.25\%$, $p=0.022$), and discard rate (48.36 ± 1.92 vs. $36.44 \pm 5.51\%$, $p=0.024$) of semen were affected by cold stress. ROS (+) cells and apoptotic cells in fresh semen were not affected by cold stress, despite their higher values in the winter season. A similar trend was observed with MitoSOX (+) cells and live acrosome intact cells in frozen semen. Further, cold stress had a significant influence on the sperm kinematic characteristics of both fresh and frozen-thawed semen. Serum hormones such as Triiodothyronine (5.23 ± 0.16 vs. 4.41 ± 0.14 ng/mL, $p=0.000$), testosterone (0.99 ± 0.12 vs. 1.68 ± 0.17 ng/mL, $p=0.002$), cortisol (3.66 ± 0.43 vs. 2.29 ± 0.12 ng/mL, $p=0.004$), and LDH (1078.54 ± 12.32 vs. 988.23 ± 13.54 U/L, $p=0.000$) were affected by the cold weather. In addition, GSH and MDA concentrations in both seminal plasma and serum were affected by cold stress. In conclusion, frigid temperatures also contribute as a stress factor, further leading to a significant reduction in the semen quality of buffalo bulls.

Keywords: buffalo bulls, cold stress, CASA, flow cytometry, semen quality.

rante el pico de las temporadas de invierno y primavera con una temperatura ambiente promedio general ($^{\circ}\text{C}$) de $12,55 \pm 0,22$ y $20,21 \pm 0,68$, respectivamente, y la sangre se recogió el mismo día para análisis bioquímicos. Los atributos seminales de rutina, a saber, volumen de semen, concentración de espermatozoides, motilidad masal, motilidad individual, viabilidad, integridad acrosómica y test de resistencia hiposmótica, se evaluaron inmediatamente después de la recolección de semen y el semen diluido se crioconservó para estudios adicionales. Además, los espermatozoides frescos y congelados se sometieron a análisis de citometría de flujo utilizando el analizador de células Luminex MUSE y CytoFLEX, Beckman Coulter-Life Sciences, respectivamente. Las características de la motilidad de los espermatozoides se evaluaron utilizando un CASA (Hamilton Thorne IVOS II) con la ayuda de ocho diapositivos en cámara Leja. Además, se analizaron las hormonas séricas mediante la técnica CMIA y el estado antioxidante tanto del suero como del plasma seminal se realizó mediante un protocolo estándar. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software IBM SPSS Statistics (v.20.0). El THI durante las temporadas de invierno y primavera fue de $54,85 \pm 0,38$ (rango del THI; 40,93 – 60,38) y $66,89 \pm 1,03$ (rango del THI; 60,04 – 77,99), respectivamente, mientras que el índice de estrés por frío fue de $857,62 \pm 8,89$ y $793,08 \pm 14,10$, respectivamente, demostrando que los valores variaron significativamente entre las estaciones ($p=0.001$). Los atributos del semen fresco como volumen (2.86 ± 0.20 vs. 2.73 ± 0.15 ml, $p=0.616$), concentración (1181.94 ± 71.32 vs. $1115.10 \pm 78.34 \times 10^6/\text{ml}$, $p=0.529$), motilidad masal (2.28 ± 0.09 vs. 2.47 ± 0.08 , $p=0.094$), viabilidad (81.95 ± 1.07 vs. $82.13 \pm 0.89\%$, $p=0.896$) e integridad acrosómica (86.17 ± 0.86 vs. $87.53 \pm 0.75\%$, $p=0.239$), no variaron entre los inviernos extremos y cómodas estaciones de primavera. Sin embargo, la motilidad individual, HOST ($66,75 \pm 1,41$ vs. $71,13 \pm 1,25\%$, $p=0,022$) y la tasa de descarte ($48,36 \pm 1,92$ vs. $36,44 \pm 5,51\%$, $p=0,024$) del semen se vieron afectados por el estrés por frío. Las células ROS (+) y las células apoptóticas en el semen fresco no se vieron afectadas por el estrés por frío, a pesar de sus valores más altos en la temporada de invierno. Se observó una tendencia similar con células MitoSOX (+) y células vivas intactas del acrosoma en semen congelado. Además, el estrés por frío tuvo una influencia significativa en las características kinemáticas del esperma tanto del semen fresco como del congelado-descongelado. Hormonas séricas como Triyodotironina (5.23 ± 0.16 vs. 4.41 ± 0.14 ng/mL, $p=0.000$), testosterona (0.99 ± 0.12 vs. 1.68 ± 0.17 ng/mL, $p=0.002$), cortisol (3.66 ± 0.43 vs. 2.29 ± 0.12 ng/mL, $p=0.004$) y LDH ($1078,54 \pm 12,32$ vs. $988,23 \pm 13,54$ U/L, $p=0.000$) se vieron afectados por el clima frío. Además, las concentraciones de GSH y MDA tanto en plasma seminal como en suero se vieron afectadas por el estrés por frío. En conclusión, las temperaturas gélidas también contribuyen como factor de estrés, lo que conduce aún más a una reducción significativa en la calidad del semen de los búfalos.

Palabras clave: toros bufalinos, estrés por frío, CASA, citometría de flujo, calidad del semen.