ENSAYO DE MEDIOS NATURALES Y SINTÉTICOS EN EL TEST DE PROGRESIÓN ESPERMÁTICA EN LA CONTRASTACIÓN DE SEMEN DE MORUECO

*Gutiérrez G, *Anel L, *Carbajo M, *Domínguez C, **Boixo C, ***Anel E, *Martínez T y ****Cahamorro C

*Dpto. Patología Animal: Sanidad (Resproducción y Obstetricia)
****Dpto. Biología Celular y Anatomía. Universidad de León. Campus Vegazana. León.
***ANCHE **CENSYRA

***Este trabajo ha sido financiado por CICYT (GAN 90-0975).**

INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores problemas que se plantean para la ejecución de la técnica de inseminación artificial es juzgar la calidad del semen que se va a utilizar. La motilidad se ha considerado como una de las características más importantes a la hora de valorar la posible fertilidad seminal, ya que tanto el transporte espermático a través del aparato genital de la hembra como la capacidad de penetración de los espermatozoides en el ovocito son, al menos parcialmente, dependientes de dicha motilidad.

Una de las técnicas que existen para valorar la motilidad espermática es el Test de Progresión Espermática (TPE), que permite valorar la capacidad de penetración de los espermatozoides en el moco cervical. Este test nos permite clasificar los distintos tipos de semen en cuanto a su motilidad y viabilidad. Uno de los factores que influyen en los resultados de esta prueba hace referencia al medio que rellena los tubos capilares. La utilización de medios sintéticos para su realización tiene la ventaja de estandarizar mucho mejor los resultados, al ser más uniforme la prueba y evitar así las variaciones individuales que presenta el moco cervical y soslayar los inconvenientes que representa la recogida de moco cervical.

En este trabajo analizamos los resultados del test de progresión espermática utilizando medios naturales y sintéticos homólogos (de oveja) y heterólogos (de vaca), estudiando, por una parte, la posibilidad de utilizar los medios sintéticos como sustitutivos del moco cervical y por otra, el comportamiento de los diferentes tipos de semen.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de la prueba de contrastación seminal se han utilizado cuatro medios: moco natural homólogo (de oveja) y heterólogo (de vaca) y medio sintético homólogo (de oveja) y heterólogo (de vaca). El moco cervical se recoge, de ovejas y/o corderas y de vacas y/o novillas en celo) mediante una jeringuilla que lleva en su extremo una vaina roma de plástico a modo de aguja. Se recoge en tubos estériles y se utilizan aquellas muestras que presentan un aspecto transparente y cristilano.

Los medios sintéticos han sido elaborados a partir del medio sintético de Lorton et al. (1981) y, se han fabricado dos, uno como sustitutivo del moco cervical de oveja, y que presenta una concentración final de acrilamida del 1,5% y otro como sustitutivo del medio natural de vaca y que presenta una concentración final de acrilamida del 2,501%. El estudio correspondiente al comportamiento reológico del moco cervical y de los medios sintéticos se realizó con un viscosímetro de cilindros rotatorios concéntricos (Haake modelo RV-12) con sistema de

atemperación. Este análisis se realizó a tres temperaturas diferentes (20°C, 37°C y 40°C), observándose que estas concentraciones finales de acrilamida tenían características físicas y químicas idénticas a las de los respectivos medios naturales. (Gutiérrez, 1995).

El semen utilizado procedía de 6 moruecos adultos de raza Churra, sometidos a un régimen sexual de dos a tres sesiones de recogida por semana, con dos saltos (espaciados 10 a 15 minutos). Se recogió un total de 20 saltos por macho durante los meses de Mayo a Junio. La recogida del semen se realizó mediante vagina artificial termorregulada a 40°C, y los eyaculados se seleccionaron por sus características de volumen (>0,5 ml), concentración seminal (3000 x 10^6 espermatozoides/ml) y motilidad masal (un valor de 4 en una escala de 0 a 5). A continuación se procesó el semen y se hicieron tres grupos: Semen fresco, semen refrigerado y semen congelado (Anel et al., 1993).

En las pruebas de penetración espermática se utilizaron baterías de capilares construidas sobre un soporte plástico de 2 x 1 x 0,5 cm que lleva escavado tres ranuras. En cada una de ellas se colocó un capilar. Y el conjunto de 6 capilares se sujetó mediante cinta texafilm. La batería así dispuesta, se introduce en un tubo de plástico (3 ml), que contiene 0,2 ml de semen. El método seguido para realizar el TPE es el descrito por Tredway et al. (1975).

El estudio estadístico se realizó mediante técnicas mínimo cuadráticas utilizando los procedimientos GLM del SAS (SAS, 1988). Los factores aplicados al análisis de varianza fueron semen y medio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar los datos recogidos en la Tabla nº 1 (Gráfica 1) se comprueba, por una parte que los resultados son significativamente mayores ($p<0,001$) cuando se utiliza un medio homólogo, natural o sintético de oveja, que cuando empleamos un medio heterólogo, natural o sintético de vaca. Esto indicaría que dicha prueba marca diferencias entre especies, es decir, el semen de una determinada especie, penetrará mejor en los medios homólogos que en los heterólogos (Mole y Fitzgerald, 1990; Galli et al., 1991).

Tabla nº 1.- Valores medios de progresión en los distintos grupos experimentales.

MEDIO	S. FRESCO	S. REFRIGERADO	S. CONGELADO
MNO	26,30 ± 4,35 **a,a'**	20,95 ± 3,59 **a,b'**	15,60 ± 3,43 **a,c'**
MSO	26,25 ± 4,19 **a,a'**	20,48 ± 3,69 **a,b'**	15,65 ± 3,00 **a,c'**
MNV	21,40 ± 4,67 **b,a'**	17,20 ± 3,49 **b,b'**	12,30 ± 3,39 **b,c'**
MSV	21,18 ± 4,07 **b,a'**	16,95 ± 3,28 **b,b'**	12,38 ± 3,40 **b,c'**

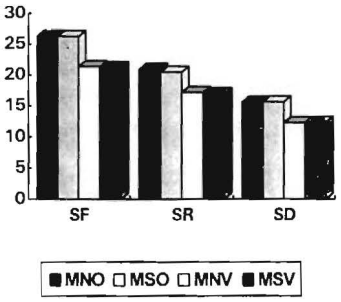
a,b. En la misma columna, letras distintas indican diferencias significativas, ($p<0,001$).
a',b',c'. En la misma fila indican diferencias significativas, ($p<0,001$).

Y por otra parte que en los medios sintéticos tanto de oveja como de vaca, se observa el mismo comportamiento que en los medios naturales respectivos, lo que demuestra no sólo que pueden

ser utilizados como sustitutivos del moco cervical natural en los ensayos laboratoriales para la valoración de dosis seminales, si no que al presentar unas propiedades reológicas similares, éstas serían determinantes para la penetración espermática (Lorton et al., 1981y Galli et al., 1991.

Al valorar el comportamiento de los diferetes tipos de semen se aprecia que existen diferencias significativas ($p<0,001$) entre ellos en cuanto a los valores de penetración espermática. De tal forma que, independientemente del medio empleado, el semen fresco progresa más que el semen refrierado y éste más que el semen congelado-descongelado. Goldstein et al. (1982) ya demostraron en sus trabajos que el semen fresco es el que presenta un mayor grado de penetración al compararlo con los valores obtenidos tanto para el semen refrigerado como para el semen congelado-descongelado.

Gráfica 1.- Test de Progresión espermática



Los bajos resultados de penetración obtenidos tanto para el semen refrigerado como para el descongelado, vendría determinado en opinión de Urry et al. (1986), por que la capacidad de penetración de los espermatozoides, así procesados y conservados, se ve ampliamente reducida por los fenómenos de adecuación a la temperatura de realización del Test de Progresión espermática.

Los valores obtenidos en este trabajo coinciden con los señalados por Lorton et al. (1981) para el semen fresco y refrigerado, y con los publicados y por Matousek et al. (1989) para el congelado-descongelado.

BIBLIOGRAFÍA

Anel E, Manso A, Anel L, Boixo JC, Álvarez M, Domínguez JC y Carbajo M. (1993). *V Jorn. sobre Producción Animal (AIDA),* Zaragoza, ITEA, Vol. extra nº 12, Tomo II:495-497.

Galli A, Basetti M, Balduzzi D, Martignoni M, Bornaghi V y Maffi M. (1991). *Theriogenology* 35:837-844.

Goldstein MC, Wix LS, Foote RH, Feldschuh R y Feldschuh J. (1982). *Fertil. Esteril.* 37:668-673.

Urry RL, Middleton RG y Mayo D. (1986). *Fertil. Esteril.* 45:135-137.

Mole JR y Fitzgerald JA. (1990). *Theriogenology* 33:1031-1043.

Lorton SP, Kummerfeld HL y Foote RH. (1981). *Fertil. Esteril.* 35:222-226.

Tredway DR, Settlage DS, Nakamuz RM, Motoshima M, Umezaki CU y Mishell RR. (1975). *Am. J. Obstet. Gynec.* 121:387-393.

Gutiérrez G. (1995). *Tesis doctoral.* Universidad de León.

Matousek J, Riha J, Srsen V, Veselsky L y Louda F. (1989).*Anim. Reprod. Sci.* 18:161-166.