INFLUENCIA DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO A –80ºC Y DE LA TEMPERATURA DE DESCONGELACION SOBRE DOSIS ESPERMATICAS PORCINAS DE BAJA CALIDAD. I. MOVILIDAD.

Vidal.A.[2];Valdelvira,J.[1];Alonso, J.[1]; Gosálvez,L.F[1].
[1]Departamento de Producción animal. Universidad de Lleida, Av. Rovira Roure, 177. 25198-Lleida.
[2]Diputación de Lleida. C/ Carme, 26. 25007 – Lleida. España

INTRODUCCION

Actualmente, la congelación de semen porcino se emplea para la mejora genética, así como en la creación de bancos de germoplasma que permitirán mantener la diversidad genética en el futuro (Vázquez et al., 1999). La limitación en el uso comercial del semen congelado es su alto coste, si bien los resultados productivos obtenidos pueden llegar a ser aceptables cuando se comparan con los de semen fresco (Gil et al., 1996). Otro inconveniente es la necesidad de un mayor control en la detección de celos cuando empleamos semen congelado (Gil et al., 1996).

La temperatura de conservación empleada ha sido tradicionalmente –196 ºC, utilizando el nitrógeno líquido por sus ventajas económicas y de manejo de las muestras, tanto en laboratorio como en campo, así como su alto grado de efectividad en otras especies (Polge, 1956; Bwanga et al., 1990). No obstante el empleo de -80ºC como alternativa al nitrógeno líquido ya se apuntaba como no descartable desde hace mucho tiempo (Pursel y Johnson 1975; Larson et al, 1977).

Distintos autores muestran que el deterioro del espermatozoide se produce en gran medida durante la descongelación (Courtens y Paquignon, 1985; Bwanga, 1991) siendo el acrosoma la región más sensible de la célula y el primer lugar por donde el frío produce lesiones, (Watson y Plumber, 1985). El ánimo del presente estudio es evaluar la influencia del tiempo de conservación y temperatura de descongelación sobre la movilidad en muestras de baja calidad inicial (15ºC).

MATERIAL Y METODOS

En el presente trabajo se han estudiado 15 muestras de semen heterospérmico procedentes de verracos, aleatoriamente elegidos, de genética PIC 411, con una edad entre 8 y 28 meses, testados periódicamente y alojados en condiciones estándar en un centro de I.A.

Las muestras de semen venían presentada en blister de 80 ml, almacenándose en un frigorífico entre 15-18ºC. El trabajo comenzaba a las 24 horas de la producción de las dosis, el primer paso consistía en observar la movilidad y calidad del movimiento. Posteriormente se centrifugaban a 1500 r.p.m. durante 10 minutos, eliminando el sobrenadante y quedando un sedimento de células espermáticas (pellet), de un volumen aproximado de 2,5 ml. Al pellet se le agregaban 2,5 ml de diluyente L-Y, (lactosa, 11%; yema de huevo, 20%) agitando suavemente con el fin de conseguir una solución homogénea. Después se bajaba la temperatura de 15ºC a 5ºC en 1,5 horas. Una vez alcanzada la temperatura de 5ºC se añadían 5 ml de crioprotector L-Y-G-OEP, (lactosa-yema, 95%; glicerol, 4%; OEP, 1%), agitando suavemente para homogeneizar. Posteriormente se envasaban las dosis en pajuelas plásticas de 0,5 ml las cuales se sometían a congelación en vapores de nitrógeno a 5 cm de la superficie líquida durante 20 minutos, momento en el que se procedía a la introducirlas en el congelador de -80ºC donde se conservaban.

La descongelación se realizó en intervalos de tiempo comprendidos entre 3, 10 y 30 días. Se emplearon 3 temperaturas y 3 tiempos distintos de descongelación; a 22ºC, y 40 segundos; a 42ºC y 20 segundos; a 50ºC y 10 segundos. Para el estudio de la movilidad masal se ha seguido la técnica descrita por Sánchez (1991).

El estudio estadístico se ha realizado mediante un glm con el programa estadístico SAS.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la movilidad tras descongelar la muestras. En ella vemos que la mayor movilidad se produce a temperaturas de descongelación de 42ºC (25,1% ± 1,2), comparando estos valores con 22ºC (21,4% ± 1,3), y con 50ºC (23,8% ± 1,5), siendo estos porcentajes menores al 50% conseguido por Hofmo y Almlid, (1991) y Watson, (1995). Aunque hay que tener en cuenta que nuestro material de partida era semen de baja calidad, con una movilidad, a 15ºC, del 70%. En cuanto a la relación entre movilidad y tiempo de almacenamiento, la mejor movilidad se obtiene para el día tres, ya que la tendencia observada es que ha medida que aumenta el tiempo de almacenamiento disminuye la movilidad, aunque sin significación estadística. Esto difiere de lo hallado por Kojima et al., (1971), que indica que a partir de una hora de conservación se equipara la movilidad poscongelación con la movilidad en fresco (15ºC)

De nuestro estudio podemos concluir que la calidad de las muestras de partida influye en el perjuicio ocasionado por la congelación, por lo que es necesario tener en cuenta, a la hora de congelar muestras, el efecto del eyaculado individual más que el efecto macho. Ya que los machos utilizados en las dosis heterospérmicas son considerados de alta calidad para I.A. en fresco.

BIBLIOGRAFIA

1 Bwanga C.O., de Bragança M.M., Einarson S., Rodriguez – Martinez H., 1990. Cryopreservation of boar semen in mini and maxi-straws. J.Vet.Med.A. 37 (9), 651-658.

2 Bwanga C.O., 1991. Cryopreservation of boar semen I: A literature review. Acta vet. Scand. 32, 431 - 453.

3 Courtens J.L., Paquignon M.,1985. International Congress on Animal Reproduction. Uppsala, Sweden.

4 Gil J., Jimenez M., Díaz C., Sanchez R., Martín S.,1996. Swine AI with frozen boar semen in work routine. Reproduction in domestic animals. 31(1), 289-290.

5 Hofmo P.O. and Almlid T., 1991. Recent developments in freezing of boar semen with special emphasis on cryoprotectants.Boar semen preservation II, Maryland, USA, Augus, USA. 1990. 19-121.

6 Larsson K., Einarsson S., Bane A., Swensson T., 1977. Research and development on deep freezing of boar semen. Haallsta, Sweden.

7 Kojima Y., Bamba K., Lida I., 1971. Effects of dilution rate and partial dialysis on freezability of boar espermatozoa. Bulletin of the Faculty of Agriculture Shizuoka University. 21, 39-41.

8 Polge C.,1956. Artificial insemination in pigs.The Veterinary Record. 68, 62-76.

9 Pursel V.G., Johnson L.A., 1975. Freezing of boar spermatozoa:fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure.Journal of Animal Science. 40(1), 99-102.

10 Sánchez R., 1991. Control de calidad espermática. Anaporc. 104, 27-33.

11 S.A.S., 1999. SAS Inst. Inc. USA.

12 Vazquez J. M., Martínez E., Roca J., Lucas X., Parrilla I., Gil M. A., 1999. Métodos y estrategias en la evaluación de espermatozoides criopreservados de verraco. Lugo, II Congreso Ibérico de Reproducción Animal. 377-381.

13 Watson P. F., Plummer J. M., 1985. The responses of boar sperm membranes to cold shock and cooling. Johnson-LA and Larsson, K. Congress Deep Freezen of Boar Semen, 113-127. Uppsala, Sweden.

14 Watson P.F., 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post – thawing function. Reprod. Fertil. Dev.(7). 871 –869.