ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo I, 300-302

RESULTADOS PRELIMINARES DE LA CARACTERIZACIÓN SEMINAL DE LA RAZA GUIRRA CON SEMEN FRESCO Y CONGELADO

MARCO-JIMENEZ, F*[1]., PUCHADES RUBIO, S*[2]., VILLAGRA GARCIA A*[1]., VICENTE, J.S.*[1]., RODRIGUEZ GARCIA, M*[2].
*[1]Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción
*[2]Sistemas y Tecnologías de la Producción Animal
Dep.Ciencia Animal.Universidad Politécnica de Valencia, 46071 Valencia, España.
e-mail: framarj1@etsia.upv.es

INTRODUCCIÓN

La raza Guirra (Sudat o Roja Levantina) es la única especie ovina autóctona de la Comunidad Valenciana, que ha sido utilizada tradicionalmente, por su aptitud mixta para la producción de leche y corderos (Rodríguez *et al.*, 2002) con un censo actual de 3.640 hembras y 174 machos (Peris *et al.*, 2002), lo que ha originado la puesta en marcha de un programa de conservación de recursos genéticos, que comprende tanto la creación de un banco de semen, como favorecer futuros programas de selección sobre esta raza.

El conocimiento de las características seminales permite determinar el rendimiento de los machos para inseminaciones artificiales y por tanto planificar el régimen de recuperaciones (Álvarez *et al.*, 2000). Junto con la caracterización seminal de la Guirra, es importante estudiar el comportamiento individual de los machos frente a la crioconservación ya que los cambios producidos por la congelación provocan daños irreversibles en las membranas plasmáticas, causando ya sea la muerte celular (Hammerstedt *et al.*, 1990) o una prematura capacitación de los espermatozoides (Watson 1995; Cormier *et al.*, 1997). Tulley y Burfening (1983) mostraron que existen factores genéticos que pueden afectar a la capacidad de los eyaculados para resistir procesos de refrigeración y congelación, además de factores de tipo ambiental e individual.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 moruecos de raza Guirra de 9 meses de edad, con semejante peso y condición corporal. Se recogieron 40 eyaculados mediante vagina artificial, con una periodicidad semanal durante cinco semanas. Tras la recuperación del eyaculado, se determinó el volumen (tubo calibrado) y se tomaron dos alícuotas, una muestra diluida (1:200) tris-citrico-glucosa con la que se calculó diferentes parámetros de motilidad mediante S.C.A. (Microptic® versión 5.1, Barcelona). Los parámetros registrados fueron: porcentaje de espermatozoides móviles totales (%), velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL), velocidad de la trayectoria media (VAP), índice de linealidad (LIN), amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH) y frecuencia de batido (BCF). Se consideraron espermatozoides móviles aquellos que presentaban una velocidad superior a 20μm/segundo (Farrel *et al.*, 1998). La otra muestra fue diluida y fijada con una solución al 2% de Glutaraldehido (dilución final 1:200) para determinar la concentración (espz/ml), mediante cámara Thoma, y la normalidad acrosómica (%NAR) y anormalidades (%ANOR), mediante microscopía óptica de contraste de fases (400x).

Cada eyaculado fue congelado incorporando el diluyente, Biociphos Plus® (IMV Technologies) con una dilución 1:5, a temperatura ambiente sobre la fracción de eyaculado. El semen fue refrigerado a 5ºC durante 2 horas, envasado en pajuelas de 0,5 ml y congelado a −120ºC en vapor de nitrógeno durante 10 minutos y finalmente llevados a nitrógeno líquido.

La descongelación se realizó en baño de agua a 50ºC durante 12 segundos. De la muestra se tomaron de nuevo dos alícuota (dilución 1:40) para determinar la normalidad acrosómica y la motilidad, al igual que con el semen fresco.

Los análisis estadísticos que se realizaron fueron un análisis de medias, sobre los parámetros cuantitativos), y un GLM (General Linear Models, Statgraphics Plus 4.1) para analizar los valores cinéticos .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios del volumen y la concentración, fueron 0,86 ± 0,06 (ml) y 2.198 ± 133 (mill/ml), respectivamente. En comparación con otras razas, la Guirra parece ser inferior, a lo mostrado para las razas Churra y Assaf (1,11± 0,03 (ml) y 4.862 ± 84 (mill/ml) y 1,05 ± 0,02 (ml) y 4.766 ± 66 (mill/ml), respectivamente (Álvarez *et al.*, 2000; Celorrio *et al.*, 1994). Fernández y Villegas (1995) no observaron diferencias significativas entre el volumen de eyaculado producido por machos de diferentes razas (Corriedale, Polwarth y Merino Australiano) pero sí en la concentración. Debe tenerse en cuenta la edad de los moruecos, ya que en nuestro estudio eran animales de 9 meses de edad (Folch (2000) señaló como el macho Raso Aragonés produce a los 9 meses el 50% de espermatozoides de un adulto, considerándose un macho adulto con 2,5 años) y el fotoperiodo, ya que las recuperaciones transcurrieron entre abril y mayo.

Respecto a los parámetros cuantitativos, el porcentaje de anormalidades (9,54 ± 2,3) fue semejante a los obtenidos para la raza Manchega, pero muy inferiores a los mostrados para la raza Karakul (12,77% y 27,43% respectivamente, en primavera, Vijil *et al.*, 1986). La normalidad acrosómica presentó un valor intermedio entre las razas Churra y Assaf (86,09 ± 0,65 y 76,15 ± 1,51, respectivamente; Álvarez *et al.*, 2000) y algo inferior a las razas Manchega y Gallega (González *et al.*, 1994 y Barrio *et al.*, 1995, respectivamente). Los efectos de la crioconservación (tabla 1) sobre los eyaculados provocó una reducción del 22,3% sobre la normalidad acrosómica. Sevillano (1995) evaluaron los efectos de la crioconservación sobre la raza Assaf, mostrando que el 68% de los eyaculados presentaron valores de normalidad acrosómica inferiores al 40%.

Tabla 1. Características seminales para semen fresco y descongelado (Media±error estándar)

TIPO SEMEN	NAR (%)	MOTILIDAD (%)
FRESCO	83,75 ± 2,2[a]	49,16 ± 2,2[a]
DESCONGELADO	65,01 ± 2,0[b]	29,48 ± 2,0[b]

[a,b] Valores con diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05)

Post-descongelación el número de espermatozóides móviles se redujo en un 40%. El estudio de los distintos parámetros seminales obtenidos (tabla 2) mostró significación estadística en todos los parámetros (fresco *vs* descongelado). La congelación es un proceso capacitante (Bailey y col. 2000), provoca la fosforilación de proteínas (Grasa y col. 2001) y la disminución de antioxidantes (Martí y col. 2001)

presentes en el plasma seminal y aumenta los niveles intracelulares de calcio (Bailey y col. 1994),. Todos estos cambios podrían ser los responsables del descenso en los valores cinéticos.

Tabla 2. Parámetros de motilidad (Media±error estándar)

	VCL(μm/s)	VSL(μm/s)	VAP(μm/s)	LIN	ALH(μ)	BCF(μ)
FRESCO	89,22±1,35^{a}	53,38±1,49^{a}	63,79±0,59^{a}	66,06±1,42^{a}	3,78±0,13^{a}	12,36±0,28^{a}
DESCONGELADO	80,68±1,2^{b}	59,72±1,34^{b}	68,07±0,53^{b}	78,57±1,28^{b}	2,41±0,12^{b}	10,65±0,25^{b}

^{a,b} Valores con diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05)

Este estudio será desarrollado más ampliamente en futuros trabajos, con machos adultos y semen recuperado en la estación reproductiva.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, M., Kaabi, M., Boixo, J.C., Anel, E., Chamorro, C.A., Martínez, S. y Anel, L. SEOC 2000, p-567-569.
- Bailey, J.L., Bilodeau, J.F., Cormier, L.N., J. Androl., 21:1-7.
- Bailey, J.L., Robertson, L., Burh, M.M. 1994. J. Anim. Sci, 74:53-58.
- Barrio, F., Peña, Al., Quintela LA. Y Herradón PG. (1995). SEOC XX. pp: 127-130.
- Celorrio I, Manso A, Sevillano C, Gamallo JA, Olmedo JA, Dominguez JC, Alvarez M, Gutiérrez G y Anel E (1994). Proc 7th Inter Meet Anim Reprod. 299.
- Cormier N, Sirard, M, Bailey JL. J. Androl 1997; 18:461-468.
- Farrell, P.B., G.A. Presicce, C.C. Brockett and R.H. Foote. Theriogenology 49: 871-879, 1998.
- Fernández-Abella, D; Villegas, N.(1995). Revista Argentina de Producción Animal, 15: 996-999.
- Folch, J. Manejo del Morueco. SEOC 2000, p 61-68
- González ME., Garzón Al., Martínez, J., Aguado, MJ., Garde J. Y Montoro, V. (1994). Proc. 7th Inter. Meet. Anim. Reprod. 109.
- Grasa, P., R. Pérez-Pé, A. Marzo, J.A. Cebrián-Pérez y T. Muiño-Blanco (2001). ITEA, número 22, tomo II. Pag 847-849.
- Hammerstedt RH, Graham JK, Nolan JP. J. Androl 1990; 18: 461-468.
- Martí, J.I., E. Martí, T. Muiño-Blanco y J.A. Cebrián-Pérez. (2001). ITEA, número 22, tomo II. Pag 853-855.
- Peris Palau, B., Corpa Arenas, J. M., Rodríguez García, M., Ibor Martínez, I., Lainez Andres, M. SEOC 2002, p 440-445.
- Rodríguez Garcia, M., Puchades Rubio, S., Martín Vicent, J.V., Peris Ribera, C., Peris Palau, B. y Fernández Martínez, N. SEOC 2002, p 907-911.
- Sevillano, C., Celorrio, I., Carbajo, M., Olmedo, JA., Manso, A., García, C. y Anel, L. (1995). SEOC XX. pp: 127-130
- SP Boyer, RO Davis and DF Katz , Curr Probl Obstet Gynecol 12 (1989), pp.167–200.
- Tulley and Burfening (1983). Theriogenology 20 (4): 435-448.
- Verstegen, J., M. Iguer-Ouada and K. Onclin 2002. Theriogenology. Pages 149-179.
- Vijil, E., Gonzalo, C., Ruíz-Poveda, J., Ciudad, C. SEOC, 133-149.1986
- Watson, P.F. (1995). Reprod Fert Develop. 7 (4) 871-891.