ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo I, 327-329

MOTILIDAD Y VIABILIDAD EN SEMEN DE VERRACOS CON PRESENCIA MASIVA DE GOTA CITOPLASMATICA PROXIMAL Y SU RELACIÓN CON LA FERTILIDAD Y PROLIFICIDAD EN CERDAS

Armando Quintero Moreno [1, 2], Teresa Rigau i Mas [1], Joan Enric Rodríguez-Gíl [1]

[1] Unidad de Reproducción Animal. Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, E-08193 Bellaterra, España. [2] Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad del Zulia, apartado. 15252 Maracaibo 4005-A – Venezuela. E-mail: armando.quintero@uab.es, juanenrique.rodriguez@uab.es

INTRODUCCIÓN

En un eyaculado normal de *Sus domesticus* se pueden encontrar entre el 5 y el 15% de espermatozoides inmaduros (Bonet y col., 2000). Las gotas citoplasmáticas engloban una pequeña parte de la pieza intermedia y están formadas por restos de citoplasma residual eliminado en las últimas etapas del proceso espermiogénico (Bonet y col., 2000). La gota citoplasmática proximal (GCP) se origina en el testículo y en su trayecto a través del epidídimo. Desde hace muchos años se ha establecido que la presencia de un porcentaje alto de GCP desmejora la calidad del semen debido a la disminución de la motilidad total y linealidad, lo cual conlleva a una disminución de la fertilidad (Waberski y col., 1994). De aquí se deriva la inquietud de conocer las características cinéticas y potencialidad de estos espermatozoides mediante el análisis computarizado de la motilidad espermática (CASA), además de evaluar la fertilidad en vivo y el tamaño de la camada en cerdas inseminadas con semen de estas características.

MATERIALES Y METODOS

En una granja comercial de Cataluña (El Guiu de Santa Cecilia), se recogieron 30 eyaculados de 5 cerdos (2 Large white y 3 Pietrain x Large white), sexualmente maduros (2 a 3 años de edad) y con un historial en 3 de ellos de porcentajes elevados de GCP en la mayoría de sus eyaculados. La recogida se efectúo mediante estimulación manual 2 veces por semana e inmediatamente se hizo la dilución seminal a una concentración de 20 x 10^6 espermatozoides/mL en un diluyente de larga duración (MR-A Extender; Kubus, Majadahonda, España). Luego, las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Reproducción Animal de la Universidad Autónoma de Barcelona para la evaluación de la motilidad mediante CASA. El porcentaje de viabilidad fue determinado mediante tinción de Eosina-nigrosina (Bamba, 1988), la funcionalidad mediante el Test de Resistencia Osmótica (ORT; Rodríguez y Rigau, 1995) y la alteración acrosomica mediante una doble tinción de Azul Tripan-Giemsa modificada (Rodríguez y Rigau, 1996). Con las dosis obtenidas de cada eyaculación fueron inseminadas 115 cerdas maduras.

El análisis estadístico fue hecho mediante el paquete estadístico SAS (2000). Tras obtener los descriptores de motilidad se realizó su optimización mediante un procedimiento estadístico reductivo de agrupamiento empleado anteriormente por Quintero y col. (2001, 2003). Luego, mediante el procedimiento FASTCLUS se establecieron 3 categorías de GCP, de acuerdo al valor numérico encontrado en las muestras de semen (A: GCP≤20, B: GCP>20≤50, C: GCP>50). Finalmente, se

valoró el efecto de estas 3 categorías sobre los parámetros de motilidad, viabilidad, fertilidad y prolificidad, para lo cual se diseñó un análisis mediante el Modelo Lineal General (GLM) y cuado se detectaron diferencias se utilizó el procedimiento LSMEANS para cuantificar el efecto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se describen en la tabla 1. Los cerdos que presentaron eyaculados con porcentajes de GCP superiores a 20 y/o 50 obtuvieron valores de motilidad y de viabilidad similar e inclusive superior a aquellos obtenidos por los cerdos con porcentajes de GCP menores al 20%. Por otro lado, la presencia de porcentajes elevados de GCP no afectó la fertilidad ni la prolificidad.

Tabla 1. Características de motilidad y viabilidad del semen con presencia masiva de gota citoplasmática proximal (GCP) y su efecto sobre la fertilidad y prolificidad en cerdas inseminadas con semen de estas características.

Parámetro	Porcentaje de Gota citoplasmática proximal (GCP, µ± ES)		
	GCP≤20 (32)	GCP>20≤50 (45)	GCP>50 (38)
VAP (µm/sec)	37,33 ± 1,39 b	47,26 ± 1,92 a	49,72 ± 2,10
LIN (%)	50,46 ± 1,71 b	57,76 ± 2,36 a	55,60 ± 2,59 ab
ALHmed (µm)	2,49 ± 0,06 ab	2,33 ± 0,09 b	2,64 ± 0,10 a
BCF (Hz)	14,42 ± 0,20 ab	13,92 ± 0,29 b	15,10 ± 0,31 a
Viabilidad (%)	88,39 ± 2,11 a	87,26 ± 1,60 a	89,12 ± 1,80 a
ORT (%)	79,20 ± 1,81 a	77,12 ± 1,66 a	83,05 ± 1,92 a
Fertilidad (%)	84,0 ± 8,0 a	82,2 ± 11,0 a	81,5 ± 12,0 a
Prolificidad (n)	9,55 ± 0,74 a	11,56 ± 0,66 a	12,68 ± 0,74 a

VAP: Velocidad lineal, LIN: Índice de linealidad, ALHmed: Amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza, BCF: frecuencia de batida de la cabeza, ORT: Test de resistencia osmótica.
( ): Los números entre paréntesis corresponden al número de cerdas inseminadas.
(a, b): Letras distintas en la misma fila implican diferencias significativas.

Se ha descrito en semen refrigerado por 4 días que las gotas citoplasmáticas disminuyen los índices de fertilidad y prolificidad, pero la motilidad total no es afectada y oscila entre 83,5 y 89,9 % (Waberski y col, 1994). En nuestra investigación se pudo comprobar que la presencia de la GCP no afecta la velocidad individual de los espermatozoides, lo cual se comprueba al no modificarse la velocidad lineal ni el índice de linealidad de los espermatozoides. De hecho, estos espermatozoides pueden ser más veloces que los que no presentan esta anormalidad. Por otro lado, los movimientos de la cabeza presentan mayor frecuencia y oscilación en los espermatozoides que presentan GCP, lo cual revela que su presencia afecta la movilidad de esta parte de la célula. La presencia de esta anomalía no induce una rápida reacción acrosomica ni tampoco el espermatozoide es afectado al ser sometido a los cambios de presión osmótica. En conclusión, la presencia de la GCP en espermatozoides no afecta significativamente los parámetros más importantes de calidad seminal. Una investigación reciente hecha en humanos señala que la correlación de niveles elevados de creatina quinasa con los niveles de peroxidación de los lípidos podría corresponder a espermatozoides bioquímicamente inmaduros con presencia de gotas citoplasmáticas (Sidhu y col.,

1998). Se recomienda seguir investigando en función del significado biológico de esta estructura, la cual se desconoce todavía.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bamba, K. (1988). Evaluation of acrosomal integrity of boar spermatozoa by bright field microscopy using an eosin-nigrosin stain. Theriogenology, 29: 1245-1251.

Bonet, S., Briz, M., Pinart, E., Sancho, S., García-Gil, N., Badia, E. (2000). Morfologia espermàtica en porcí. Institut d'estudis Catalans, secció de Ciencies Biològiques, 1ra edi., 242 pp.

Quintero-Moreno, A., Miro, J., Rigau, T., Rodríguez-Gil, J. E. (2003). Identification of sperm subpopulations with specific motility characteristics in stallion ejaculates. Theriogenology, 59: 1973-1990.

Quintero-Moreno, A., Rivera del Álamo, M., Rigau i Mas, T., Rodríguez-Gil, J. E. (2001). Optimización de los parámetros de motilidad espermática porcina mediante agrupamiento jerárquico. ITEA, 22 (II): 832-834.

Rodríguez-Gil, J. E., Rigau, T. (1995) Effects of slight agitation on the quality of refrigerated boar semen. Anim. Reprod. Sci., 39: 141-146.

Rodríguez-Gil, J. E., Rigau, T. (1996). Effects of ouabain on the response to osmotic changes in dog and boar spermatozoa. Theriogenology, 45: 873-888.

SAS. (1996). SAS/STAC Software: SAS Inst. Inc.; Carry, NC. USA.

Sidhu, R.S. Sharma, R.K.; Agarwal, A. (1998). Relationship between creatine kinase activity and semen characteristics in subfertile men. Int. J. Fertil. Womens Med. 43(4): 192-197.

Waberski, D., Meding, S., Dirksen, G., Weitze, K. F., Leiding, C., Hahn R. (1994). Fertility of long-term-stored boar semen: Influence of extender (Androhep and Kiev), storage time and plasma droplets in the semen. Anim. Reprod. Sci., 36: 145-151.