

# INFLUENCIA DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO A -80°C Y DE LA TEMPERATURA DE DESCONGELACION SOBRE DOSIS ESPERMÁTICAS PORCINAS DE BAJA CALIDAD. II. ACROSOMIA.

Valdelvira J.J.<sup>1</sup>; Vidal A.<sup>2</sup>; Alonso J.<sup>1</sup>; Gosálvez L.F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción animal. Universidad de Lleida, Av. Rovira Roure, 177. 25198-Lleida

<sup>2</sup>Diputación de Lleida. C/ Carme, 26. 25007 – Lleida. España

## INTRODUCCION

Uno de los retos actuales de la I.A. porcina es la utilización de semen congelado a nivel industrial, que en estos momentos, debido a su alto coste, solo se emplea a nivel experimental (Bwanga, 1991). Aunque ya hay autores que indican que se pueden conseguir resultados similares a los obtenidos con dosis en fresco (15°C)(Gil et al., 1996). Uno de los obstáculos a salvar es el elevado número de espermatozoides con acrosoma lesionado que causa la congelación, debido a que esta es la región más sensible de la célula y el primer lugar donde el frío produce daños (Watson y Plumber, 1985). Las lesiones sufridas se derivan tanto del enfriamiento, congelación y descongelación (Morris y Watson, 1984), como del tiempo de almacenamiento de las dosis (Watson, 2000). Por lo que la temperatura de descongelación es un parámetro crucial (Thilmant, 1998; Eriksson y Rodríguez-Martínez, 2000).

La conservación de los espermatozoides a temperaturas distintas a -196°C es desde hace tiempo un hecho (Pursel y Johnson 1975; Paquignon y Courot, 1976; Larson et al., 1977), encontrándose que la temperatura de -80°C, por su efecto sobre los acrosomas, es aceptable como alternativa al uso clásico del nitrógeno líquido (-196°C).

El ánimo del presente estudio es evaluar la influencia del tiempo de conservación y temperatura de descongelación sobre la acrosomía en muestras de baja calidad inicial (15°C).

## MATERIAL Y METODOS

Para realizar el presente trabajo se han utilizado las muestras ya mencionadas en el trabajo presentado por nosotros en este mismo congreso (Influencia del tiempo de almacenamiento a -80°C y de la temperatura de descongelación sobre dosis espermáticas porcinas de baja calidad. I Movilidad). El procesamiento de las muestras previo a la congelación y durante ella, es el mismo que el seguido en la ponencia antes mencionada.

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 22°C, y 40 segundos; a 42°C y 20 segundos; a 50°C y 10 segundos.

Para el estudio de la acrosomía, se ha analizado el porcentaje de espermatozoides con el acrosoma intacto (NAR), basándonos en 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 observa como el mayor número de acrosomas normales (NAR) se obtienen para las temperaturas de descongelación de 42°C y 50°C (32,6% ± 1,6), no apareciendo diferencias significativas entre estos dos resultados. Diversos autores consiguieron un valor de NAR superior al hallado en este estudio, (Larson, 1985; Hofmo y Amlid, 1991; Watson, 1995). Hemos empleado dosis espermáticas de baja calidad a 15°C, con un NAR del 80%. La temperatura de descongelación de 22°C ha resultado ser la peor de las tres. La relación entre NAR y tiempo de almacenamiento es similar a la hallada para la movilidad, obteniéndose el mejor para el día 3 de almacenamiento. Al desaparecer las diferencias estadísticas entre el día 10 y 30, se puede deducir que las lesiones se producen entre los días 3 y 10 de conservación, afectando a los acrosomas más sensibles a la

congelación. Esta tendencia no ha sido hallada por otros autores a  $-196^{\circ}\text{C}$ , (Almlid et al., 1987; Kuo, 1984). Lo que parece indicar que la temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$  es únicamente aconsejable para mantenimiento de dosis a corto plazo.

Nuestros resultados indican que la temperatura de descongelación influye marcadamente en el resultado de la congelación, así como la calidad de las muestra de partida, ya que los daños causados por la congelación son mayores en este tipo de muestras que en estudios realizados por nosotros con semen de alta calidad (Gosálvez et al., 1999). Por otro lado indicar que la conservación de dosis a  $-80^{\circ}\text{C}$  es una posible solución para el almacenamiento de dosis en centros de inseminación durante cortos periodos de tiempo.

Es necesario realizar más investigación en este campo, estudiando más animales así como realizando inseminaciones, con el fin de ver la viabilidad "in vivo" de estas muestras.

### BIBLIOGRAFIA

- 1 Almlid T., Stavne S.E., Johnson L.A., 1987. Fertility evaluation of the straw freezing technique for boar semen under practical artificial insemination conditions. *Zuchthygiene*, 22 (5), 193 – 202.
- 2 Bwanga C.O., 1991. Cryopreservation of boar semen I: A literature review. *Act. vet. Scand.* 32, 431 - 453.
- 3 Eriksson B.M., Rodriguez-Martinez H., 2000. Effect of freezing and thawing rates on the post-thaw viability of boar spermatozoa frozen in flatpacks and maxi-straws. *Anim. Reprod. Sci.* 63, 205-220.
- 4 Gosálvez L.F., Valdelvira J., Vidal A., Boira D., 1999. Resultados de congelar dosis heterospermicas porcinas, según cantidad y tiempo de penetración del glicerol. IX Congreso de Zootecnia. 36. Oporto (Portugal).
- 5 Gil J., Jiménez M., Díaz C., Sánchez R., Martín S., 1996. Swine AI with frozen boar semen in work routine. *Reproduction in domestic animals*. 31(1), 289-290.
- 6 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, August, USA. 1990. 19-121.
- 7 Kuo Y.H., 1984. *Journal of the Agricultural Association of China.*, 128, 53-56.
- 8 Larsson K., Einarsson S., Bane A., Swensson T., 1977. Research and development on deep freezing of boar semen. Haallsta, Sweden.
- 9 Larsson K., 1985. Boar sperm viability after freezing and thawing. *International Congress on Animal Reproduction*. Uppsala, Sweden
- 10 Morris G.J., Watson P.F., 1984. Cold-sock injury, a comprehensive bibliography. *Cryoletters*. 5, 352 - 372.
- 11 Paquignon M., Courot M., 1975. Fertility and prolificacy of sows inseminated with frozen boar semen. *Ann. Zootech.*, (4).
- 12 Pursel V.G., Johnson L.A., 1975. Freezing of boar spermatozoa: fertilising capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. *J. Anim. Sci.* 40(1), 99-102.
- 13 Sánchez R., 1991. Control de calidad espermática. *Anaporc.* 104, 27-33.
- 14 S.A.S., 1999. SAS Inst. Inc. USA.
- 15 Thilmant T., 1998. Cryopreservation of boar semen in 0,5 ml french straws. 10th Meeting 28 – 30 October. Bruges. Belgium.
- 16 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.
- 17 Watson, P.F. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*. 60-61, 481- 492.
- 18 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.