

OPTIMIZACION DE LOS PARÁMETROS DE MOTILIDAD ESPERMÁTICA PORCINA MEDIANTE AGRUPAMIENTO JERARQUICO

Quintero-Moreno, Armando; Rivera Del Álamo, M^a Montserrat; Rigau i Mas, Teresa y Rodríguez-Gil, Joan Enric.

Unidad de Reproducción Animal, Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona. E-08193. Bellaterra. España. E-mail: armando.quintero@uab.es , juanenrique.Rodriguez@uab.es

INTRODUCCIÓN

El análisis de semen por computadora (CASA) es un sistema basado en la captura sucesiva de imágenes que provienen de un microscopio, la digitalización de las mismas, la identificación y seguimiento de estas células en imágenes sucesivas, el establecimiento de trayectorias, el procesado matemático y finalmente la exposición de los resultados (Boyers y col., 1989, Krause, 1995; Vázquez y col., 1997). Estos resultados se reflejan en una serie de parámetros derivados del análisis del desplazamiento de dos planos de la cabeza espermática a través del tiempo. El problema radica en realizar la selección de los parámetros mas apropiados mediante el método estadístico mas correcto que pueda explicar de una mejor manera el comportamiento cinético del espermatozoide en cada una de las especies donde se utiliza esta técnica.

En función de lo anteriormente establecido, se procedió a realizar un análisis de agrupamiento jerárquico, basado en la correlación de la matriz de Covarianza de los resultados obtenidos mediante CASA de los distintos parámetros de velocidad y angularidad del espermatozoide con el fin de establecer y seleccionar las variables mas importantes que expliquen mejor la funcionalidad espermática en verracos.

MATERIALES Y METODOS

Se obtuvieron muestras seminales de 64 cerdos, cedidas por la empresa "Semen Cardona S.L.", (Cardona, Barcelona), recolectadas mediante estimulación manual del animal y procesado inmediatamente en un diluyente de larga duración (SP Veterinaria; Riudoms, Tarragona) a una concentración de 3000×10^6 spz./ml. y a temperatura de 35°C para ser almacenado posteriormente a 16°C. Luego, estas muestras fueron trasladadas al laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona para realizar la evaluación de la motilidad mediante CASA. El equipo consta de un microscopio de contraste de fase conectado a una platina atemperada que permite mantener las muestras a 37°C, una cámara de video de alta resolución que esta conectado a una pantalla de televisión y un software (Sperm Class Analyzer V5.0, Microptic, Barcelona) que sirve para el análisis de las trayectorias espermáticas (Boyers y col., 1989).

Para seleccionar las variables que expliquen mejor las trayectorias espermática se utilizó el procedimiento VARCLUS (SAS, 1996), el cual se aplicó a las 21 variables propuestas por el análisis cinético aportado por CASA a una población compuesta por 2.574 espermatozoides. Este procedimiento realiza un agrupamiento jerárquico de variables basado en la correlación de la matriz de

covarianza. Los grupos son seleccionados al maximizar la variación estimada para cualquiera de los componentes principales o para los componentes centrales de cada grupo, por lo tanto, el procedimiento VARCLUS puede ser usado para reducir el número de variables que explican algún fenómeno (SAS, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Agrupamiento jerárquico de las variables bajo estudio.

Agrupamiento	Variable o Parámetro	R ² con		Proporción (1- R ² _{pr} /1-R ² _{pc})
		Dentro del grupo(PG)	El grupo más cercano (PC)	
Grupo 1	VSL *	0.8606	0.3760	0.2235
	VAP *	0.9395	0.5861	0.1461
	AV	0.8807	0.5902	0.2910
	H-Y	0.6039	0.1876	0.4876
Grupo 2	LIN *	0.8682	0.2253	0.1701
	STR	0.5060	0.1688	0.5943
	WOB *	0.8907	0.2920	0.1544
	AI	0.7524	0.3650	0.3899
	MADABS	0.7045	0.0654	0.3162
	MADALG	0.3352	0.1191	0.7547
	BCF	0.2211	0.0728	0.8400
Grupo 3	ALHMED *	0.9293	0.4029	0.1184
	ALHMAX	0.8697	0.3253	0.1931
	DNC *	0.9008	0.5158	0.2048
	DNM	0.4612	0.1917	0.6665
	HHI	0.5858	0.3956	0.6854
Grupo 4	HLO *	0.8270	0.0472	0.1816
	HME	0.8270	0.3473	0.2651
Grupo 5	VCL	0.7411	0.5977	0.6437
	HHMX	0.7527	0.2708	0.3391
	HBS *	0.8313	0.3609	0.2640

* Variables seleccionadas.

VSL: Velocidad rectilínea, VAP: Velocidad lineal, AV: velocidad angular media, H-Y: Amplitud del armónico, LIN: Índice de linealidad, STR: Índice de rectitud, WOB: Índice de oscilación, AI: Índice de angularidad, MADABS: Desplazamiento angular medio absoluto; MADALG: Desplazamiento angular medio algebraico, BCF: Frecuencia de batida, ALHMED: Amplitud media del desplazamiento lateral, ALHMAX: DNC: Dance, DNM: Dance medio, HHI: Mayor oscilación armónica de la cabeza HLO: Menor oscilación armónica de la cabeza, HME: Oscilación media de la cabeza, VCL: Velocidad curvilínea, HHMX: Máxima amplitud de la oscilación de la cabeza, HBS: Armónico básico de la oscilación de la cabeza.

El agrupamiento jerárquico en 5 grupos estiman el 72.8 % de la variación total. En forma general, el procedimiento propone seleccionar las variables que posean un R² elevado dentro de su propio grupo (1: PG), un R² bajo con su grupo mas cercano (2: PC) y una relación proporcional baja entre los grupos (3: 1- R²_{pr} /1-1R²_{pc}), lo cual indica un buen agrupamiento; pero debido a la dificultad de realizar la

clasificación en función de estas 3 propiedades, se realizó en función de la 1^{ra} y la 3^{ra}, las cuales se consideran más relevantes. Tomando esto en cuenta, se procedió a seleccionar las variables VAP y/o VSL, WOB y/o LIN, ALHMED y/o DNC, HLO y HBS respectivamente en cada uno de los 5 grupos. La variable BCF presenta grados de correlación muy bajos con todos los parámetros aportados por CASA, lo cual fue constatado en un análisis de correlación previo, por lo tanto, se tomó esto en cuenta al momento de realizar la selección y considerar su importancia como herramienta de predicción. La mayoría de las investigaciones revisadas, utilizan la selección mediante un criterio netamente biológico, y no hacen esta selección sometiendo los datos a distintos análisis multivariantes que aportan los paquetes estadísticos. En contraste, Abaigar y col. (1999) investigando subpoblaciones espermáticas en Cerdo y Gacela sugirieron utilizar la VCL, VAP, VSL, ALH, BCF, LIN y STR como los descriptores del movimiento espermático, utilizando como procedimiento de selección el SAHN-UPGMA del paquete estadístico PATN diseñado por el CSIRO para analizar poblaciones mediante análisis multivariante (Belbin y col., 1993). Como se puede observar, esta selección aportó 5 parámetros de velocidad, 1 de angularidad y 1 de oscilación de la cabeza. Las variables seleccionadas por el procedimiento VARCLUS en este trabajo, corresponde a un agrupamiento más equitativo de los índices de velocidad, angularidad y parámetros de oscilación de la cabeza. Sin embargo, es muy difícil determinar la metodología estadística más exacta y que expliquen de un mejor modo las distintas trayectorias trazadas por un espermatozoide, ya que, a excepción de la BCF y HLO, casi todos estos parámetros presentan una media a elevada correlación, en virtud de que son productos, cocientes y/o relaciones porcentuales derivados de las relaciones entre estos parámetros. Se recomienda evaluar la fertilidad del semen y realizar ecuaciones predictivas en función de estos parámetros citados, para así establecer cual o cuales de estas trayectorias valoran mejor la calidad seminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abaigar, T.;** Holt, W.; Harrison, R.; Del Barrio, G. 1999. Sperm Subpopulation in boar (*Sus scrofa*) and Gazelle (*Gazella dama mhorr*) Semen as Revealed by Pattern Analysis of Computer-Assisted Motility Assessments. *Biology of Reproduction* 60:32.
- Belbin, L.** 1993. Pattern Analysis Package, Software Division of Wildlife and Ecology. Canberra/Australia: CSIRO.
- Boyers, S. P.;** Davis, R.; Katz, DF. 1989. Automated Semen Analysis. *Curr. Probl. Obstet. Gynecol. Fertil*, 12:172-200.
- Krause, W.** 1995. The significance of computer-assisted semen analysis (CASA) for diagnosis in Andrology and fertility prognosis. *Hum. Reprod.*, Vol. 10. 1: 60-66.
- SAS.** SAS/STAC Software: SAS Inst. Inc.; Carry, NC. USA., 1996.
- Vázquez, J. M.;** Martínez, E. A.; Roca, J., Blanco, O.; Lucas, X.; Matas, C. 1997. Utilización del analizador de imágenes para la evaluación de la motilidad de los espermatozoides de verraco. IV Simposium Internacional de Reproducción e I.A. Porcina. Madrid, p. 83-90.