

BIOMETRIA DE LA CABEZA DEL ESPERMATOZOIDE DEL CERDO DOMÉSTICO SEGÚN SU EDAD

Quintero-Moreno, A., Carvalho J., González, D., Morales, B., Mejía, W., Osorio, C., Rubio, J. Laboratorio de Andrología, Facultad de Veterinaria, Universidad del Zulia (LUZ). Venezuela.
E-mail: arturo93@cantv.net (A. Quintero-Moreno).

INTRODUCCIÓN

El análisis automatizado de la morfología espermática (ASMA) determina el tamaño y la forma del espermatozoide de una manera objetiva y reproducible (Buendía et al., 2002), siendo utilizada de manera experimental para determinar las dimensiones individuales de los espermatozoides de cerdos (Thruston et al., 2001; Kondracki et al., 2004; Peña et al., 2005); además de hacer posible la separación de los espermatozoides de una muestra seminal en subpoblaciones (Thruston et al., 2001; Peña et al., 2005).

La producción de semen y su calidad se pueden ver notablemente afectada por la edad del verraco (Bussiere y Bariteau, 1992). Los parámetros de calidad seminal mejoran paulatinamente a medida que el cerdo completa su madurez sexual, lo cual está asociado con el desarrollo de los testículos que determina el número de espermatozoides (Clark et al., 2003; Kondracki et al., 2004).

En esta investigación y mediante el ASMA se busca describir y comparar las dimensiones de la cabeza espermática de cerdos domésticos clasificados en 2 categorías según su edad. Como segundo objetivo, se agruparán los espermatozoides valorados en 2 subpoblaciones (SP), de acuerdo a sus dimensiones de la cabeza, con el fin de observar si hay cambios según el incremento de la edad del cerdo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en una granja comercial (PROPORCA) ubicada en el municipio San Francisco del estado Zulia, Venezuela; coordenadas 10°30'45"N y 71°45'42"O. Se utilizaron eyaculados de 20 verracos de la línea genética Dalland Tempo (TOPIGS), alojados en ambiente controlado de confort higrotérmico (Chore time 2529,676, modelo 8-B1.5) y agrupados en 2 categorías según su edad (A: ≥ 10 meses y ≤ 18 meses, B: >18 meses y ≤ 30 meses). Los eyaculados que cumplieron con el mínimo de requerimientos establecido para su uso en IA (motilidad >3 , contejo total $>20 \times 10^9$ espermatozoides y $<$ del 20 % de anomalías morfológicas), se diluyeron con el producto comercial MR-A (Kubus, Majadahonda, España). Para valorar la biometría de la cabeza espermática se prepararon frotis de cada muestra seminal y se tiñeron con HEMACOLOR (Merck, Darmstadt, Alemania, Cat. No. 11661), en un procedimiento descrito por Buendía et al. (2002).

El ASMA se realizó mediante un software disponible comercialmente (*Sperm-class Analyzer®*, Microptic, Barcelona, España). Las imágenes fueron grabadas en formato de vídeo y digitalizadas con 256 niveles de grises. Las dimensiones morfométricas del espermatozoide como la longitud (L), el ancho (W), el área (A), y el perímetro (P) fueron tomadas de 150 imágenes por frotis. Todos los datos obtenidos fueron analizados mediante el *Statistical Analysis System software 8.2*, para Windows (SAS Inst. Inc.; Carry, NC. EUA. 2002). Los efectos de la edad del animal sobre las dimensiones de la cabeza de los espermatozoides se analizaron utilizando el procedimiento GLM. En los resultados se expresan las medias mínimo-cuadráticas (LSMEANS), su separación con una probabilidad de error inferior al 0.1% y el error estándar. Para agrupar los espermatozoides en subpoblaciones se utilizó el procedimiento FASTCLUS, usado anteriormente al agrupar descriptores de motilidad en cerdos (Quintero-Moreno et al., 2004). Las diferencias entre subpoblaciones se determinaron mediante Chi-cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los hallazgos obtenidos demuestran que los espermatozoides de cerdos domésticos miden entre 8,5 y 9,0 μm de largo y entre 4,2 y 4,5 μm de ancho (Tabla 1). Los espermatozoides provenientes de cerdos con edades entre 18 y 30 meses tienen mayor longitud en 0,11 μm al compararlos con los cerdos menores de 18 meses de edad

($P<0,001$); sin embargo, el W, el A y el P presentaron valores inferiores en los cerdos de mayor edad (Tabla 1). Hallazgos previos mencionan que el espermatozoide de cerdo presenta dimensiones de 8 μm de L y 5 μm W (Cummins y Woodall, 1985). Otro estudio observó dimensiones de L, W y A de 8,0 μm , 4,0 μm , y 27,5 μm^2 , respectivamente (Peña et al., 2005); mientras que otros autores han reportado una media de 8,56 y 4,62 para la L y W en cerdos jóvenes de fertilidad comprobada (Thurston et al., 2001). En verracos de fertilidad alta (>86%), las dimensiones de la cabeza espermática corresponden a 8,97 μm , 4,73 μm y 35,1 μm^2 para L, W y A respectivamente (Hirai et al., 2001). Es posible conseguir diferencias en cuanto a las dimensiones de la cabeza del espermatozoide de cerdos al comparar los hallazgos de trabajos recientes (Hirai et al., 2001; Thurston et al., 2001; Kondracki et al., 2004 y 2005), lo cual, podría deberse al método de procesado de la muestra (fijación y tinción).

Los resultados indican que las dimensiones de la cabeza de espermatozoides experimentan cambios asociados al desarrollo sexual del cerdo. Los espermatozoides de un animal mayor de 18 meses de edad son más elongados al tener mayor L y menor dimensión en cuanto al W. En otro experimento similar, no se encontraron diferencias en cuanto a la L y W del espermatozoide asociados a la edad del animal (Kondracki et al., 2005). Las dimensiones de la cabeza del espermatozoide de toro (*Bos taurus*) se asocian a la variabilidad existente en cuanto a la estructura de la cromatina (Sailer et al., 1996). Existe un estudio hecho en espermatozoides de gato (*Felis catus*), que sería interesante hacerlo en el porcino (*Sus scrofa doméstica*), que relaciona una distribución anormal de la densidad intracelular del espermatozoide a anomalías o daños en la estructura de la cromatina (Hingst et al., 1995).

El análisis de agrupamiento permitió separar la población espermática obtenida mediante el ASMA en 2 SP (Tabla 2). El mayor número de espermatozoides conforman la subpoblación 1 (SP₁), que corresponden a los espermatozoides más pequeños (64,68%), seguidos de la subpoblación 2 (SP₂) representada por espermatozoides de mayor tamaño (35,32%). El origen de estas SP no está claro, sin embargo, es probable que se deba a los diferentes grados de maduración que tiene la célula espermática en el epidídimos, y que se observa al momento de la eyaculación, lo que puede reflejarse en variaciones sutiles en la morfología de la célula espermática (Thurston et al., 2001; Peña et al., 2005). Estos últimos separaron la población de espermatozoides muestrada en 4 SP, mientras que Thurston et al. (2001) establecieron 3 SP.

En el presente caso se determinó que agrupando los espermatozoides en 2 SP, se podían identificar de una manera precisa las diferencias biométricas esperadas.

Se pudo evidenciar que en verracos menores de 18 meses de edad, existe un 58,39 % de espermatozoides que corresponden a la SP₁ y 41,61 % a la SP₂. Esta última población contiene espermatozoides de mayor tamaño; sin embargo, a medida que el cerdo completa su desarrollo sexual y supera los 18 meses de edad, se evidencia que la población que contienen los espermatozoides de mayor dimensión (SP₂) disminuye hasta un 20,83 %, lo cual deriva en un 79,22 % de espermatozoides con menores dimensiones, correspondiente a la SP₁. La edad del animal afecta significativamente ($P<0,0001$) a la distribución de los espermatozoides dentro de las 2 SP, existiendo una disminución de las dimensiones de la cabeza espermática cercana al 21 %. En la actualidad, no existen reportes similares de cambios en las SP establecidas biométricamente, producto de la edad del cerdo doméstico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Buendía, P., Soler, C., Paolicchi, F., Gago, G., Urquieta, B., Pérez-Sánchez G., Bustos-Obregón, E. 2002. *Theriogenol.* 57: 1207-1218.
- Bussiere, J., Bariteau, U. F. 1992. 24^{es} Journess de la Reserche Porcine en France. París. 02/4-6. Francia: 357-362.
- Clark, S. G., Schaeffer, D. J., Althouse, G. C. 2003. *Theriogenol.* 60: 1011-1023.
- Cummins, J. M., Woodall, P. F. J. 1985. *Reprod. Fertil.* 75: 153-175.

- Hingst, O., Blottner, S., Franz, C. 1995. *Androl.* 27: 275-279.
- Hirai, M., Boersma, A., Hoeflich, A., Wolf, E., Foll, J., Aumuller, R., Braun, J. 2001. *J. Androl.* 22: 104-110.
- Kondracki, S., Banaszewska, D., Wysokinska, A., Kosieradzka, J. *J. Agrobiol. Ecol.* 2004. 1: 112-117.
- Kondracki, S., Banaszewska, D., Mielnicka, D. 2005. *Cell&Mol Biol Lett.* 10: 3-13.
- Peña, F.J., Saravia, F., García, M., Núñez, I., Tapia, J.A., Johannesson, A., Wallgren, M., Rodríguez-Martínez, H. J. 2005. *Androl.* 26:716-723.
- Quintero-Moreno, A., Rigau, T., Rodriguez-Gil, J.E. 2004. *Theriogenol.* 61: 673-690.
- Sailer, B. L., Jost, L. K., Evenson, D. P. 1996. *Cytometry.* 24: 167-173.
- Thurston, L.M., Watson, P.F., Mileham, A.J., Holt, W.V. 2001. *J. Androl.* 22: 382-394.

Tabla 1. Características Biométricas de los espermatozoides de verraco según su edad

Parámetro (LSMEANS±EE)	Grupo A	Grupo B
	(≥ 10 y ≤ 18 meses)	(>18 y ≤ 30 meses)
Longitud de la cabeza, μm	$8,84 \pm 0,008^b$	$8,95 \pm 0,01^a$
Ancho de la cabeza, μm	$4,44 \pm 0,005^a$	$4,32 \pm 0,009^b$
Área de la cabeza, μm^2	$33,33 \pm 0,05^a$	$32,39 \pm 0,06^b$
Perímetro de la cabeza, μm	$27,65 \pm 0,04^a$	$26,33 \pm 0,04^b$

Letras variadas (a, b) en cada fila indican diferencias significativas ($P<0,001$).

Tabla 2. Características Biométricas de los espermatozoides de verraco según subpoblación

Parámetro (LSMEANS±EE)	Subpoblaciones espermáticas	
	SP ₁	SP ₂
Longitud de la cabeza, μm	$8,65 \pm 0,41^b$	$9,10 \pm 0,41^a$
Ancho de la cabeza, μm	$4,28 \pm 0,243^b$	$4,55 \pm 0,27^a$
Área de la cabeza μm^2	$31,69 \pm 1,89^b$	$35,33 \pm 1,88^a$
Perímetro de la cabeza, μm	$26,37 \pm 1,9^b$	$28,85 \pm 2,1^a$
Grupo A, % (nº espermatozoides)	58,39 (1593) ^a	41,61 (1135) ^b
Grupo B, % (nº espermatozoides)	79,22 (934) ^a	20,78 (245) ^b
Diferencia Grupo A – Grupo B, %	- 20,83	+ 20,83

Letras variadas (a, b) en cada fila indican diferencias significativas ($P<0,001$).

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de la Universidad del Zulia (proyectos CC-0858-08/ CC-0045-06).

BIOMETRY OF SPERM HEAD IN DOMESTIC PIG ACCORDING THEIR AGE

ABSTRACT: Assisted Sperm Morphometry Analysis (ASMA) was used to determine the sperm head biometry (SHB) of 20 Dalland domestic boars classified by age, and then the data set clustered in sperm subpopulations (SP). The boar age was classified in 2 categories, A: under 18 months old and B: over 18 months old. The SHB (Length, μm / Width, μm , Area, μm^2 and Perimeter, μm) were analyzed in slides stained with Hemacolor® by the Sperm-Class Analyser®. Spermatozoa collected from older boar (A) had head length larger than younger boar (B), however, the width, area, and perimeter were smaller in older boar than younger boar. Two SP were clustered to ratify the differences between A and B categories. The mean values of each SHB among the SP were significantly different ($P<0.001$). Thus, the percentage of representation of the SP that includes those spermatozoa whose dimensions are the largest decreased from 41.61 in boars under 18 months old to 20.78% in boars over 18 months old. Whereas, the percent of representation of the SP containing the smallest spermatozoa increased from 58.39% in boars under 18 months old to 79.22% in pigs over 18 months old.

Keywords: Boar, sperm, biometry, subpopulations.