

DEFECTOS EN LA IMPLANTACIÓN DE LA COLA ESPERMÁTICA EN VERRACOS Y SU EFECTO EN LA FERTILIDAD

Gadea, J., García-Vázquez, F.A., Gumbao, D. y Matás C.
Dpto. Fisiología (Facultad de Veterinaria). Universidad de Murcia. España.
E-mail: jgadea@um.es

INTRODUCCIÓN

En el campo de la reproducción porcina se ha producido un gran desarrollo en las técnicas de gestión y control reproductivo que han ido íntimamente unidas a la aplicación de la inseminación artificial. Esta técnica ha permitido la máxima utilización del potencial genético de reproductores de alto valor, ha sido una herramienta fundamental en la prevención y lucha contra las enfermedades porcinas y ha supuesto, en definitiva, un mejor control de todo el proceso reproductivo (Gadea, 2005). En los centros de inseminación artificial debe realizarse un control exhaustivo de la calidad seminal que permita la detección de animales que presentan alteraciones en el espermiograma y que en consecuencia puedan tener una fertilidad reducida (Gadea et al., 2004). En este trabajo describiremos un caso en el que se presenta una situación de fertilidad reducida asociada a alteraciones en diversos parámetros seminales en un grupo de reproductores.

El objetivo de este trabajo fue determinar si estos animales de esta estirpe específica presentaban alteraciones en los diferentes parámetros seminales que fueran causa de la reducción de la fertilidad, usando como control animales de otra raza albergados en el mismo centro y manejados de la misma manera.

MATERIAL Y MÉTODOS

En un centro de inseminación se detecta un grupo de verracos de raza Duroc que presentan una fertilidad reducida con unos valores medios de tasa de gestación a los 28 días post-inseminación del 75%, mientras que la fertilidad media es superior (85-90%). También se detecta un aumento de la tasa de abortos o pérdidas embrionarias tempranas entre los días 22 y 25 post-inseminación. En el centro de inseminación no se observan alteraciones significativas en la calidad seminal (volumen, concentración espermática, acrosomas), ni modificaciones en las capacidades de conservación del semen diluido. Solamente se detecta una motilidad moderadamente reducida y un aumento de formas anormales.

Sobre muestras de 9 animales problema (Duroc) y 6 animales control (Control) se realizan los siguientes análisis espermáticos: 1. Evaluación de la motilidad por observación directa y mediante CASA. 2. Viabilidad espermática (Tinción fluorescente con diacetato de carboxifluoresceína e yoduro de propio). 3. Morfología espermática por microcopia de contraste de fases y microscopio electrónico de barrido. 4. Estado acrosomal. 5. Generación de agentes oxidantes (por citometría de flujo). 6. Evaluación de la viabilidad y el estado de desorden lipídico de las membranas espermáticas. 7. Alteraciones de la condensación cromatínica. 8. Fecundación *in vitro*. Todos estos parámetros fueron analizados siguiendo los protocolos establecidos en nuestro laboratorio y utilizando sistemas CASA, micropsia de fluorescencia y citometría de flujo (Gadea et al., 2005; 2008).

Los datos se muestran como media \pm error estándar de la media. Los datos fueron analizados con un modelo ANOVA de una vía, siendo el factor principal el grupo de animales. Se muestran diferencias significativas con $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las muestras de los verracos objeto del estudio (Duroc) se caracterizan por una motilidad relativamente reducida en comparación a los animales Control ($65,6 \pm 3,7$ vs. $80 \pm 2,2\%$), y presentan un movimiento poco progresivo y circular como se hace evidente con la reducción de la linealidad ($32,4 \pm 0,5$ vs. $44,96 \pm 0,7\%$), el aumento de la amplitud de los movimientos laterales de la cabeza ($3,6 \pm 0,1$ vs. $2,7 \pm 0,1 \mu\text{m}$) y una reducción de la frecuencia de batido

(5,4±0,1 vs. 7,6±0,1 Hz). La viabilidad espermática está igualmente moderadamente reducida (día 1: 80,2±1,6 vs. 89±1,8%; día 3: 56,2±1,4 vs. 71,3±1,6%) y presentan un mayor desorden de los lípidos de membrana (37,2±2,1 vs. 25±2,1%). Por el contrario, no se detectan alteraciones significativas en el estado de los acrosomas (92,1±1,7 vs. 92,5±0,8%) ni en la generación de agentes oxidativos entre ambos grupos (5,0±0,2 vs. 5,4±0,2 unidades arbitrarias de fluorescencia).

La evaluación de la morfología espermática pone de manifiesto un número elevado de alteraciones de la cola (cola en látigo y ovillo) junto con un moderado número de gotas citoplásmicas (Tabla 1). Al estudiar la implantación de la cola y la cabeza detectamos un elevadísimo número de implantación abaxial, con un desplazamiento lateral de la implantación variable (38,2 vs 1,1 % $p < 0,001$). La observación de las muestras en el microscopio electrónico de barrido confirmaron estas alteraciones en la simetría de la implantación de la cola.

El análisis del grado de condensación nuclear muestra que los espermatozoides del grupo problema presentan un grado de condensación mayor que los del grupo control (64,8±1,8 vs. 55,24±2,0 Unidades arbitrarias de fluorescencia, $p < 0,01$). Finalmente, en el estudio de la fecundación *in vitro*, tanto los porcentajes de penetración como el número medio de espermatozoides por ovocito estuvo marcadamente reducido en el grupo objeto de estudio (Tabla 2).

Los animales problema (Duroc) proceden de una misma estirpe y se caracterizan por una reducción significativa de la fertilidad, aunque ésta no puede determinarse exactamente para cada individuo por el sistema de inseminación con dosis alternativas. Sin embargo, la presencia de alta frecuencia de casos de implantación abaxial de la porción intermedia, asociado con alteraciones en los parámetros de la estructura nuclear apunta a que el origen se encuentre en una alteración de origen genético y de carácter hereditario, como ha sido descrito previamente (Thilander et al., 1985).

La relación entre la presencia de colas de implantación abaxial y la fertilidad no está del todo aclarada. Mientras que algunos autores la relacionan con casos de infertilidad (Peet et al., 1988, Thilander et al., 1985) otros no encuentran una relación directa entre fertilidad y presencia de esta alteración en la cola de los espermatozoides porcinos (Sarlós et al., 1990) y vacunos (Barth, 1989).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barth, A.D. 1989. Abaxial tail attachment of bovine spermatozoa and its effect on fertility. *Can Vet J* 30: 656-662.
- Gadea, J. 2005. Sperm factors related to *in vitro* and *in vivo* porcine fertility. *Theriogenology* 63: 431-444.
- Gadea, J., Sellés, E., Marco, M.A. 2004. The predictive value of porcine seminal parameters on fertility outcome under commercial conditions. *Reprod Domest Anim* 39: 303-308.
- Gadea, J., García-Vázquez, F., Matás, C., Gardón, J.C., Cánovas, S., Gumbao, D. 2005. Cooling and freezing of boar spermatozoa: supplementation of the freezing media with reduced glutathione preserves sperm function. *J Androl* 26: 396-404.
- Gadea, J., Gumbao, D., Cánovas, S., García-Vázquez, F.A., Grullón, L.A., Gardón, J.C. 2008. Supplementation of the dilution medium after thawing with reduced glutathione improves function and the *in vitro* fertilizing ability of frozen-thawed bull spermatozoa. *Int J Androl*. 31:40-49.
- Peet, R.L., Kluck, P., McCarthy, M. 1988. Infertility in 2 Murray Grey bulls associated with abaxial and swollen midpiece sperm defects. *Aust Vet J* 65: 359-360.
- Sarlós, P., Wckrcle, L., Nagy, Z. 1990. Zusammenhang zwischen Fertilität und Kopfschwanzkoppelung bei Eberspermien. *Reprod Dom Anim* 25: 87-89.
- Thilander, G., Settergren, I., Ploen, L. 1985. Abaxial implantation of the middle piece in spermatozoa and spermatids in related sterile boars. *Acta Vet Scand* 26: 513-520.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido cofinanciado por AGL2009-12512-C02-01 y por Fundación Séneca 08752/PI/08.

Tabla 1. Morfoanomalías espermáticas (%)

Raza	Normal	GCP	GCD	CL	CO	otros
Duroc	54,75	8,00	24,50	11,33	1,42	0,00
Control	76,14	0,43	16,86	6,00	0,43	0,00
Valor-P	0,01	0,02	0,31	0,36	0,35	0,46

GCP: Gotas citoplásmica proximal, GCD: Gotas citoplásmica distal, CL: Cola en látigo, CO: Cola en ovillo

Tabla 2. Fecundación *in vitro*

Raza	Nº ovocitos	% penetración	Nº medio espermatozoides por ovocito
Duroc	209	10,05±2,08	1,24±0,12
Control	132	34,09±4,14	2,00±0,21
Valor-P		<0,01	0,02

ABNORMAL IMPLANTATION OF THE MIDDLE PIECE IN BOAR SPERMATOZOA AND ITS EFFECT ON FERTILITY

ABSTRACT: A group of boars from the same Duroc line breed was associated with a reduction of the fertility in commercial farms averaging from 90 to 75%. The sperm analysis at the artificial insemination centre only detected a moderate reduction of the motility and increased number of spermatozoa with morphological abnormalities. A more thorough study compared seminal samples from 9 of these boars (problem) with other 6 boars (control) that were maintained and managed in the same way. Results indicated a significantly reduced motility in the problematic boars and the pattern of movement exhibited lower linearity and straightness, higher amplitude of lateral head movement and lower beat cross frequency. The sperm morphology was characterised by a higher number of spermatozoa that presented an abaxial implantation of the intermediate piece. The viability was reduced and a higher lipid membrane disorder was detected. However, no differences were found for acrosome status and generation of reactive oxygen species (ROS). In addition, Duroc boars presented a higher condensation of chromatin and a lower *in vitro* fertilizing capacity. These results suggest the alteration in the sperm functionality of these boars that could be related to a significant reduction in reproductive outcomes.

Keywords: Spermatozoa, morphology, pig, fertility.