

DIFERENCIAS EN LA CINÉTICA ESPERMÁTICA ENTRE TOROS DE RAZA HOLSTEIN Y ASTURIANA DE LOS VALLES

Tamargo, C.¹, Muíño, R.², Rodríguez, A.¹ y Hidalgo, C.O.¹

¹Área de Selección y Reproducción Animal, Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Gijón. España.

² Unidad de Reproducción y Obstetricia, Facultad de Veterinaria de Lugo (USC). Lugo. España. E-mail: rodrigomuino@colvet.es

INTRODUCCIÓN

El objetivo del presente estudio, fue comparar la estructura cinética de las subpoblaciones espermáticas, en semen fresco y descongelado, entre toros de leche (Holstein) y toros de aptitud cárnica (Asturiana de los Valles) de los cuales, *a priori*, se conoce que presentan diferentes tasas de fertilidad en campo. Los datos que disponemos de fertilidad, obtenidos durante todo el año 2009 (datos facilitados por la Asociación Asturiana para el control lechero (ASCOL)) en novillas al primer servicio, evidenciaron que la tasa de no retorno (TNR) a los 90 días fue mucho menor en toros Holstein (57,0%) frente a los toros de raza Asturiana de los Valles (67,6%). El dato de la TNR, es sin duda el mejor indicador de fertilidad de los toros. Sin embargo, hasta el momento no se ha podido establecer una correlación concreta entre la motilidad de las subpoblaciones espermáticas y su fertilidad real en campo. Debido a que en España es muy difícil obtener este dato para un lote de semen congelado concreto, puesto que, en los programas de testaje de toros se recoge el dato de TNR global de todo el año, y por lo tanto, de todos los lotes de semen utilizado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 114 eyaculados fueron recolectados de 19 toros (9 Holstein y 10 Asturiano de los Valles; seis eyaculados por toro), con edades comprendidas entre los 14 y 24 meses de edad. Estos toros permanecían en el centro de IA de Cenero (Gijón, Asturias). La recolección se realizó durante 3 semanas consecutivas, con dos recogidas a la semana. Después de la recolección se realizó una evaluación inicial de cada eyaculado para determinar su volumen, concentración espermática y motilidad subjetiva. Se tomó inicialmente una alícuota del eyaculado para realizar una evaluación de la motilidad espermática en el sistema computerizado de análisis de imagen (CASA.) El sistema CASA utilizado fue un Sperm Class Analyzer(SCA 2002[®] Micoptic, Barcelona, España) y el resto del eyaculado fue procesado para la congelación. Los resultados de motilidad espermática, así como los parámetros cinéticos de cada espermatozoide individual fueron determinados usando el CASA, para determinar la existencia de las subpoblaciones espermáticas en semen fresco de las dos razas. Después de 4 semanas de almacenamiento de las dosis seminales, fueron descongeladas a 37 °C y evaluadas en el momento de la descongelación y después de 2 horas de incubación con el CASA para determinar el efecto de la criopreservación y el estrés térmico sobre la distribución de los espermatozoides dentro de cada subpoblación espermática. Tras el análisis de clusters multivariante realizado sobre 30.397 espermatozoides móviles se identificaron cuatro subpoblaciones espermáticas con diferentes patrones de motilidad

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El valor medio (\pm desviación estándar) de la motilidad total espermática en los eyaculados de toros Holstein fue $82,3 \pm 9,8\%$, mientras que para los toros Asturianos de los Valles fue $95,0 \pm 4,5\%$. Después de la descongelación e incubación de 2 horas, la motilidad total decreció, aunque no de forma significativa, $78,5 \pm 12,8\%$ y $69,8 \pm 16,3\%$, respectivamente, en semen de toros Holstein, y $78,8 \pm 16,7\%$ y $76,9 \pm 16,7\%$ respectivamente, para los toros Asturianos. La motilidad total está influenciada de forma significativa por la raza ($P < 0,001$), el tiempo de incubación (semen fresco comparado con las 0 h o las 2 horas post-descongelación) ($P < 0,001$) y la interacción entre ambos efectos ($P < 0,05$). Dentro de la raza, el toro tuvo un efecto significativo en la motilidad total ($P < 0,05$) a lo largo de los diferentes tiempos de evaluación, sin embargo, el día experimental no tuvo un efecto significativo sobre la motilidad total.

Al estudiar el efecto de la raza sobre la estructura cinética que define las subpoblaciones espermáticas, fue posible determinar la existencia de cuatro subpoblaciones espermáticas bien definidas:

Subpoblación 1, representada por espermatozoides con velocidad relativamente baja (media VCL (velocidad curvilínea), VSL (velocidad rectilínea) y VAP (velocidad media)) pero con trayectoria muy progresiva (alta LIN (índice de linealidad de la trayectoria curvilínea), STR (índice de rectitud), WOB (índice de oscilación), BCF (frecuencia de batido) y baja ALH (amplitud media del desplazamiento lateral). Esta subpoblación está constituida por un 28% de espermatozoides móviles.

Subpoblación 2, contiene espermatozoides muy activos y no progresivos, como indica elevados valores de VCL y ALH junto con bajos valores de LIN y STR, y moderada BCF. Esta subpoblación se considera que tiene un movimiento similar a al hipercinesis, y está constituida por un 19% del total de espermatozoides móviles.

Subpoblación 3, incluye un 23% del total de espermatozoides con una pobre motilidad y un movimiento no progresivo, como indican sus bajos valores de VCL, VSL, VAP, y BCF junto con baja LIN, STR y WOB.

Subpoblación 4, contiene un 30% del total de la población móvil, representada por espermatozoides con el movimiento más rápido y progresivo, como indican los altos valores de VCL, VSL, VAP y BCF junto con una alta LIN, STR, WOB y moderada ALH.

La frecuencia de distribución de los espermatozoides dentro de cada subpoblación fue significativamente diferente ($P < 0,001$) para los toros de las dos razas (datos no mostrados). Por ejemplo, en muestras de semen fresco de toros Holstein alrededor de un 36% de espermatozoides móviles fueron asignados a la subpoblación 3, mientras que, para toros Asturianos de los Valles, esta subpoblación representaba solo el 13% del total de espermatozoides móviles. En contraste, la subpoblación 4 (la más rápida y progresiva) fue significativamente mayor en Asturiana de los Valles que en toros Holstein (36% vs. 21%).

En los resultados es notable reseñar, en eyaculados en fresco, que la frecuencia de distribución de espermatozoides dentro de las subpoblaciones difirió significativamente entre ambas razas, pero casi no hubo diferencias entre toros de la misma raza (Figura 1, a-b).

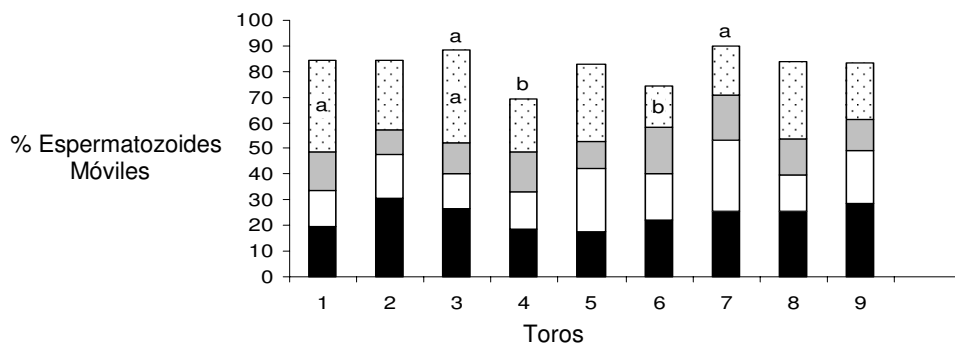
En un estudio reciente (Hoflack *et al.*, 2007) encontró diferencias en la motilidad valorada objetivamente y en los parámetros cinéticos entre toros Holstein y Azul Belga. Estos autores sugieren que un componente genético podría ser el responsable de la diferencias en motilidad entre ambas razas. Nuestros resultados también parecen corroborar dicha hipótesis, de una diferencia genética entre toros Asturiano de los Valles y Holstein, aunque sería necesario evaluar mayor número de eyaculados.

Los resultados del presente estudio sugieren que la motilidad espermática subpoblacional de los eyaculados de los toros podría ser indicativa de su fertilidad *in vivo*. Nosotros no hemos podido valorar las posibles correlaciones matemáticas entre la existencia de las subpoblaciones espermáticas móviles y su fertilidad *in vivo*, puesto que la TNR recogida en campo, representa la fertilidad global de cada toro a lo largo del año que está siendo testado, y no disponemos de la fertilidad de los eyaculados valorados en este estudio. Sin embargo, la diferencia de 10,6 puntos en la TNR a los 90 días entre ambas razas, sugiere que la calidad del semen fresco, o el efecto directo de la congelación o ambas causas no tienen el mismo efecto en ambas razas. Por otro lado, la diferencia observada en la TNR entre ambas razas no puede estar relacionada con diferencias en la detección de celo o con otras prácticas de manejo, puesto que, todas las inseminaciones registradas para los toros Asturiano de los Valles y los Holstein fueron hechas en novillas primíparas de raza Holstein (datos facilitados por la Asociación Asturiana para el control lechero (ASCOL), 2009).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hoflack, G., Opsomer, G., Rijsselaere, T., Van Soom, A., Maes, D., De Kruijff, A., Duchateau, L. 2007. Comparison of computer-assisted sperm motility analysis parameters in semen from Belgian Blue and Holstein-Friesian Bulls. *Reprod Dom Anim* 42: 153-161.

A) Eyaculados Holstein



B) Eyaculados Asturianos de los Valles

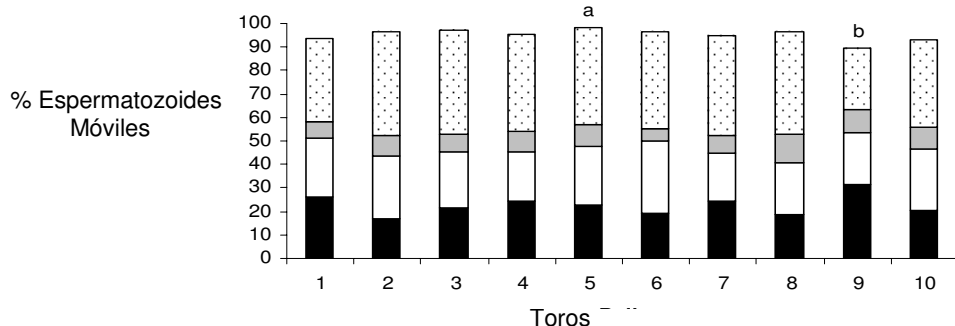


Figura 1. Frecuencia relativa de la distribución de espermatozoides móviles dentro de cada subpoblación (subpoblación 1: columnas negras, 2: columnas blancas, 3: columnas grises, 4: columna punteada). Letras diferentes (a, b) dentro de las columnas indican diferencias significativas dentro de las subpoblaciones entre toros. Letras (a, b) encima de las columnas indican diferencias significativas entre los toros en la motilidad espermática total.

KINETIC DIFFERENCES IN SPERM FROM HOLSTEIN AND ASTURIANA DE LOS VALLES BULLS

ABSTRACT: The aim of this study was to compare the motile sperm subpopulational structure in fresh and frozen-thawed semen from dairy (Holstein, n= 9) and beef bulls (Asturiana de los Valles, n=10) which were known to have different field fertility (90 day non-return rates: 57.0 vs. 67.6%). The overall sperm motility and the kinematic parameters of individual spermatozoa were evaluated in fresh semen and after 0 and 2 h post-thawing. A multivariate clustering procedure separated 30,397 motile spermatozoa into 4 subpopulations with different motility patterns: subpopulation 1 showed medium velocity and high progressiveness, subpopulation 2 included spermatozoa with high velocity but non progressive trajectory, subpopulation 3 represented slowly motile and non progressive sperm, and subpopulation 4 included very rapid and highly progressive sperm. The kinetic parameters defining the four subpopulations, and the spermatozoa distribution frequency within them significantly differed between breeds. Fresh and frozen-thawed semen samples from Asturiana de los Valles bulls showed higher proportion of spermatozoa in the most rapid and progressive sperm subpopulation (36.2 vs. 21.3%) whereas those from Holstein bulls showed a higher percentage of spermatozoa in the subpopulation of poorly motile and non progressive sperm (35.7 vs. 13.0%).

Keywords: Kinetic parameters, breed, motility, cryopreservation.