

Semen porcino congelado. ¿Realidad o ficción?

C. Gómez-Rincón, R. Mozo Martín y S. Cabrejas Gómez

Departamento de I+D+i. Magapor SL.

Cuando hablamos de Inseminación Artificial (IA) porcina lo hacemos sin duda, de semen refrigerado. A diferencia de lo que sucede en especies como el bovino, donde casi en el 100% de los casos la técnica se lleva a cabo con semen congelado (en nitrógeno líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$), en porcino dicha cifra no alcanza el 5%.

Las altísimas tasas de fecundidad (80-90%) y prolificidad (11-12 lechones) logradas con semen fresco, frente a la mediocridad de los resultados obtenidos con semen congelado (40-70% y 9-10 lechones), hacen posiblemente que el uso de semen congelado continúe siendo, aún hoy, casi una curiosidad limitada al ámbito académico (Bolarín *et al*, 2006).

El principal inconveniente para el desarrollo de dicha tecnología está en la propia naturaleza del espermatozoide porcino. Debido a una serie de características celulares, un gran número de espermatozoides no sobreviven al proceso de congelación-descongelación o sufren daños irreversibles que comprometen su capacidad fecundante así por ejemplo, hasta el 50% de los acrosomas pueden resultar dañados en el proceso (Figura 1). Esta sensibilidad se conoce como shock por frío (Pursel *et al*, 1973) y está íntimamente relacionada con la composición lipídica de la membrana del espermatozoide que contiene muchos ácidos grasos insaturados en la bicapa lipídica y poco colesterol (Nikolopoulou *et al*, 1985). Como consecuencia de su composición lipídica, la membrana espermática sufre una serie de modificaciones físico-químicas durante los procesos de enfriamiento, congelación y descongelación que originan cambios estructurales y funcionales en los espermatozoides que provocan un efecto similar a un "envejecimiento celular prematuro" (Watson, 1996). En este sentido, se ha observado que los espermatozoides congelados desarrollan un patrón de movimiento similar al descri-

to en casos de hiperactividad espermática (Suárez *et al*, 1992). Esta circunstancia sugiere que la criopreservación, desencadena en la célula espermática un estado parecido a la capacitación que reduce considerablemente su supervivencia en el aparato reproductor de la hembra (Watson *et al*, 1995). Por este motivo, son necesarias dosis seminales con aproximadamente, el doble de concentración que en la IA con semen fresco ($5-6 \times 10^9$ vs $2-3 \times 10^9$) circunstancia que encarece cuantiosamente el proceso. Por otra parte, existe una gran variabilidad individual en resistencia espermática a la congelación. De hecho, la importancia del factor individuo es tal que, tradicionalmente, se ha clasificado a los machos como "buenos congeladores" o "malos congeladores" (Medrano *et al*, 2002). Esta circunstancia, hace que sea estrictamente necesaria una selección de los verracos previa a la congelación, dificultando aún más la técnica.

En lo referente a la búsqueda de puntos críticos en el proceso de congelación, cabe destacar que el daño celular no es homogéneo a lo largo del mismo. Se ha demostrado que de las tres fases (enfriamiento, congelación y descongelación), la mayor pérdida de viabilidad espermática tiene lugar durante la congelación y descongelación del semen. Así, estudios recientes muestran que el factor que ejerce una mayor influencia en la supervivencia espermática es la tasa de descongelación seguida del factor individuo y la tasa de congelación (Ericsson *et al*, 2000). Por el contrario, durante el enfriamiento, únicamente se producen pequeños cambios en la motilidad y en la integridad de la membrana.

Técnicas de congelación

A pesar de los avances técnicos en la actualidad a nivel comercial, únicamente se emplean dos métodos de congelación que datan de 1975: Método Westendorf (Westendorf *et al*, 1975) y Método Beltsville (Pursel y Jonson, 1975). Ambos métodos emplean yema de huevo y glicerol como agentes crioprotectores, azúcares y un agente detergente (Cuadro I).

En el método americano Beltsville las muestras seminales se colocan sobre nieve carbónica para congelarse en forma de píldoras (pellets) de un centenar de microlitros (Figura 2). Por su parte, en el método alemán (Westendorf *et al*, 1975) se envasa las muestras seminales en pajuelas de 5 ml (Figura 3).

El método Westendorf es el más frecuentemente empleado en la actualidad aunque se han introducido ciertas modificaciones para mejorar el ratio superficie/volumen de los envases (macropajuelas 0,5 ml y flat-pack) y garantizar así, una congelación más homogénea o ajustes en las condiciones de adición del glicerol (Almid *et al*, 1988). Además, trabajos recientes indican que algunas técnicas como la eliminación de componentes de bajo peso molecular del esperma mediante diálisis antes de la congelación (Fraser *et al*, 2007) mejora sensiblemente la motilidad espermática, la integridad de la membrana y la función mitocondrial. Por el contrario los autores del mencionado trabajo no observaron efecto alguno sobre la integridad del acrosoma. Del mismo modo, se ha observado que la adición de lipoproteínas de bajo peso molecular al diluyente de congelación incrementan el porcentaje de espermato-

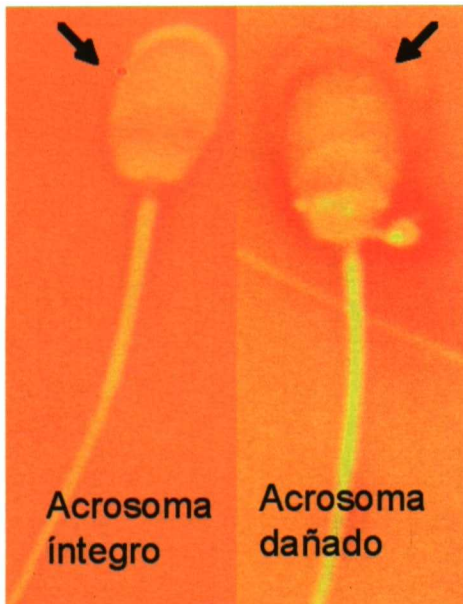


Figura 1.

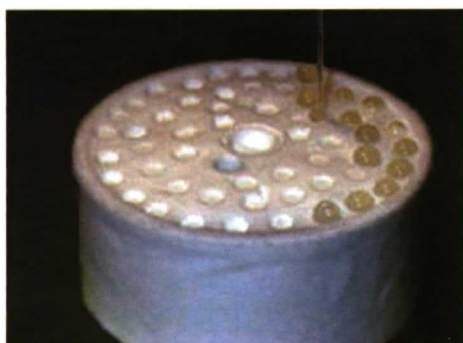


Figura 2.



Figura 3.

zoides con acrosomas intactos, la motilidad espermática y la integridad de la membrana plasmática (Jiang *et al*, 2007).

Ventajas del semen congelado

Al margen de las dificultades e inconvenientes, especialmente el encarecimiento de la IA y las dificultades técnicas, la criopreservación de semen porcino ofrece numerosas ventajas (Cuadro II), entre las cuales cabe destacar las siguientes aplicaciones:

- Intercambio de material genético. Permitirá la importación/exportación de semen a larga distancia y a

Cuadro I.		
Técnica de Criopreservación	Composición	
Método Pursel y Jonson (llevar hasta 100 ml con agua destilada)	Tes	1,2 g
	Tris	0,2 g
	Glucosa	3,2 g
	Yema de huevo	20 ml
Método de Westendorf <i>et al</i>	Orvus Es Paste	0,5 ml
	Lactosa (solución al 11%)	100 ml
	Yema de huevo	25 ml
	Orvus Es paste	0,5% V/V

Cuadro II.	
Ventajas	Inconvenientes
Facilitará el Intercambio de material genético a grandes distancias y a largo plazo	Requiere mayor concentración espermática concentradas (5-6x10 ⁹ vs 2-3x10 ⁹) incrementando el precio de la dosis (3 vs 6 €)
Contribuirá al control sanitario y/o genético exhaustivo del semen /verraco antes de su uso	Menor fertilidad (10-20% menos) y prolificidad (1-2 lechones menos)
Permitirá la creación de Bancos de semen	Sólo un 30% de los verracos dan semen congelable
Contribuirá al aprovechamiento óptimo de los verracos de élite	Complicación y ausencia de estandarización en la técnica de congelación
Optimización de la gestión de CIA	

largo plazo (años). Esta prolongación de la vida útil del semen, contribuirá a rentabilizar al máximo a los reproductores de gran valor genético y permitirá efectuar controles sanitarios y/o genéticos exhaustivos antes de su uso.

- Creación de bancos genéticos. La ventaja principal de dichos bancos es que, permiten mantener la variabilidad genética de una especie de forma casi indefinida. Así, el semen almacenado en estos bancos se puede utilizar durante muchos años después de la muerte del animal del que procede. Esta característica hace que sean una herramienta fundamental en la recuperación poblacional de razas en peligro de extinción. Además, permitiría introducir material genético de gran valor sin riesgos sanitarios, asegurado el abastecimiento de semen de calidad en caso de inmovilizaciones por epidemias.
- Creación de Bancos de dosis de espermatozoides manipulados, sexados, modificados, etc. La determinación del sexo de la descendencia antes del nacimiento

tiene un gran interés económico, ya que permitiría programar la producción hacia línea macho o hembra de acuerdo a las necesidades, y por otro lado, acelerar los programas de mejora genética.

- La optimización de la gestión de los Centros de Inseminación Artificial (CIA). Facilitaría la planificación de las extracciones ya que permitiría:
 - Contar con un remanente de dosis seminales evitando la sobreexplotación de los animales.
 - Tener una calidad de producto uniforme a lo largo de todo el año.

Conclusión

A pesar de las evidentes ventajas que reporta el uso de semen congelado y de los esfuerzos realizados, los rendimientos de las técnicas de congelación continúan siendo bajos. Los trabajos realizados en los próximos años y el conocimiento que de la célula espermática proporcionen decidirán si se produce o no la implantación definitiva de la IA con semen congelado en porcino. ●

Bibliografía en poder de la redacción a disposición de los lectores interesados