

Mejora de la calidad seminal en inseminación artificial

Aunque la producción de dosis seminales de calidad óptima obliga a realizar un análisis completo del eyaculado previo a su elaboración, la tendencia sigue siendo la utilización de muy pocos parámetros para una evaluación rápida de las dosis.

Es por ello que una parte de los fallos de fertilidad debería imputarse a esta falta de información de la calidad del eyaculado utilizado.

P. García-Casado¹, C. López²,
B. Pérez-Llano¹, R. Hernández¹,
J. Ibáñez¹ y J. Gosálvez²

¹Gestión Veterinaria Porcina, S.L.

²Universidad Autónoma de Madrid

La inseminación artificial es, en la actualidad, una técnica ampliamente extendida en el sector porcino, después de muchos años de implantación y mejoras de la metodología utilizada, para tratar de obtener cada vez mejores resultados de fertilidad.

Para conseguir este fin, por un lado se han desarrollado los métodos de inseminación y se ha mejorado la composición de los diluyentes utilizados para la preparación de las dosis seminales. Pero, por otro lado, aunque la producción de dosis seminales de calidad óptima obliga a realizar un análisis completo del eyaculado previo a su elaboración, la tendencia sigue siendo la utilización de muy pocos parámetros para una evaluación rápida de las dosis. Una parte de los fallos de fertilidad debería imputarse a esta falta de información de la calidad del eyaculado utilizado.

Problemática de la evaluación de la calidad seminal

En el ganado porcino, en estos momentos, la tendencia apunta al uso cada vez más frecuente de la inseminación post-cervical, es decir, al depósito del semen en el cuerpo del útero, cuando habitualmente y de forma tradicional, la inseminación se realiza a nivel cervical. Esto hace posible una reducción del número de espermatozoides utilizado por cada dosis de inseminación. De esta forma, mientras en la inseminación cervical se utilizan una media de 3.000 millones de espermatozoides, la inseminación intrauterina se puede acometer con 1.500 e incluso con 1.000 millones de espermatozoides. Por ese motivo, el análisis de la calidad de los espermatozoides que se utilicen para estos propósitos adquiere una mayor importancia, imponiéndose la selección de los eyacu-

lados que contengan una población de espermatozoides de óptima calidad.

Obviamente, la inseminación de tipo cervical también resultaría beneficiada con una selección previa de eyaculados más exigente.

En el eyaculado se encuentra una población de células espermáticas de diferente calidad que coexisten en el mismo, aunque la evaluación se realiza de forma global. Lo que se obtiene en dicha evaluación es la estimación del porcentaje de células que está en buen o mal estado según la prueba realizada. A su vez, el espermatozoide analizado de forma individual, tiene diferentes características que definen su calidad y que deben ser evaluadas para conocer el estado de todas sus funciones o de la mayor parte de ellas.

Los parámetros más utilizados en el análisis de la calidad seminal, son en primer lugar, la motilidad, la cual tan sólo indica que los espermatozoides están vivos, dado que la metodología de evaluación es tan importante, que la alteración tan sólo de un grado de temperatura al analizarlo varía el movimiento espermático. Por tanto, es un parámetro el cual no debe tener toda la importancia que se le da, ya que el espermatozoide una vez dentro del útero, se estimula con diversas sustancias secretadas por el útero, logrando su máxima motilidad después de producirse el fenómeno de "capacitación" a la altura del oviducto, indispensable para lograr la fecundación del ovocito.

Por otra parte, el estudio de la morfología, indica que el espermatozoide ha llegado bien a su grado final de desarrollo y que no tiene ninguna anomalía que le impida realizar la fecundación (persistencia de gotas citoplásmicas proximales, anomalías en cabeza, tracto intermedio o cola). Pero es-

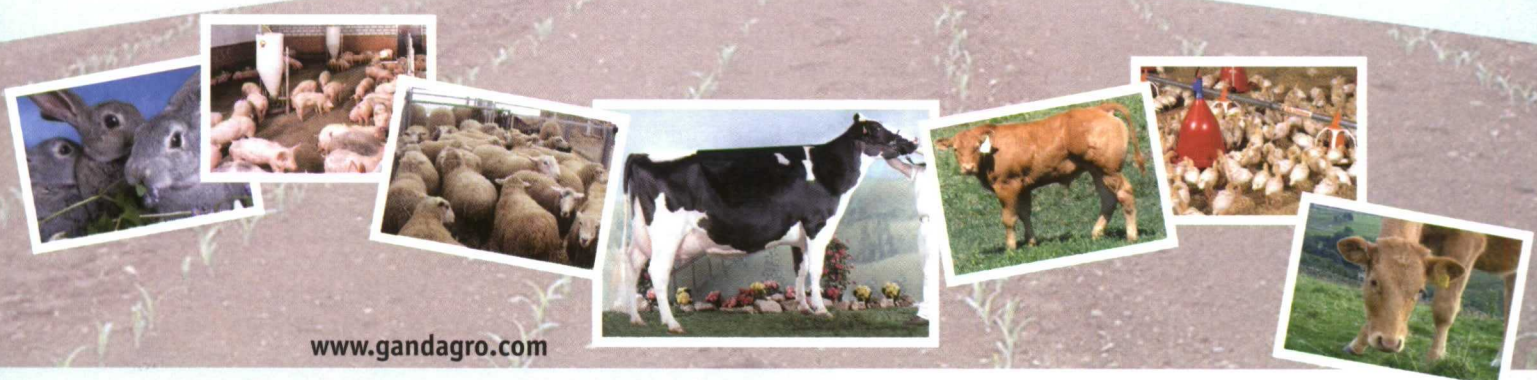
tos parámetros no son suficientes si la tendencia es a disminuir el número de espermatozoides utilizados en la dosis seminal, ya que cada espermatozoide adquiere una mayor responsabilidad para conseguir la fecundación, siendo necesario el análisis de las estructuras de membrana, y como se ha constatado en nuestras más recientes investigaciones, el estado de la cadena del ADN.

En cuanto al estado de las membranas, es muy importante analizar el estado del acrosoma, que debe estar intacto. Es la estructura situada en la parte apical de la cabeza del espermatozoide, que contiene las enzimas necesarias para poder realizar la penetración del ovocito. Este análisis, es más importante cuanto más tiempo se mantengan las dosis conservadas. Las pruebas de membrana como el HOST corto y el HPAR (espermatozoides HOSTc positivos con el acrosoma intacto) muestran el estado estructural y la capacidad funcional de la membrana plasmática y del acrosoma.

Cuadro I. Valores medios de calidad seminal obtenidos en el estudio (233 eyaculados de 22 verracos).

Motilidad	75,7%
Porcentaje de acrosomas normales	75,9%
Gotas proximales	8,2%
Gotas distales	11,3%
Colas en látigo	6,8%
Índice de fragmentación de ADN	3,1%

Por otra parte, no se puede olvidar que la calidad del ADN del espermatozoide es esencial para conseguir un desarrollo embrionario perfecto. El índice de fragmentación del ADN (IF ADN) indica el porcentaje de espermatozoides con el ADN fragmentado. La presencia de fragmentación del ADN en un espermatozoide implica que, aun teniendo capacidad fecundante, por presentar buena motilidad, no tener ninguna anomalía y tener las membranas en buen estado, se puede producir una muerte embrionaria, al no poder repararse de forma eficiente. >>



www.gandagro.com

GandAgro 2010

I Salón Monográfico de la Ganadería y la Agricultura

Feira Internacional de Galicia

4 - 6 de marzo



FEIRA INTERNACIONAL DE GALICIA • E-36540 SILLEDA • Pontevedra • España
Tlfn. +34 986 577000 • Fax. +34 986 580865 • info@feiragalicia.com



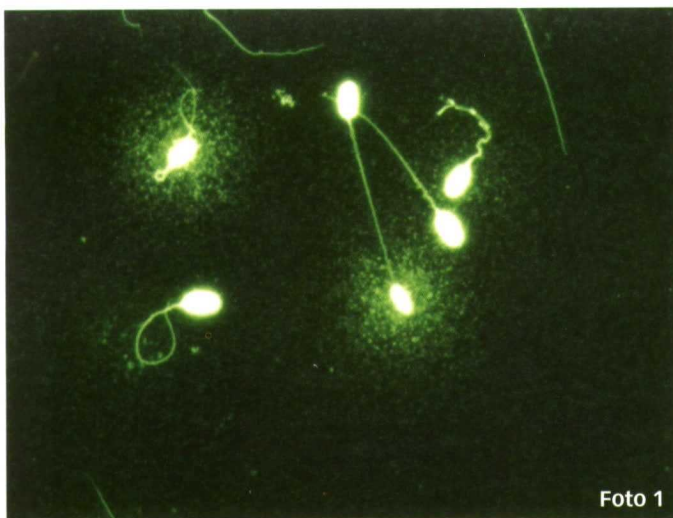


Foto 1

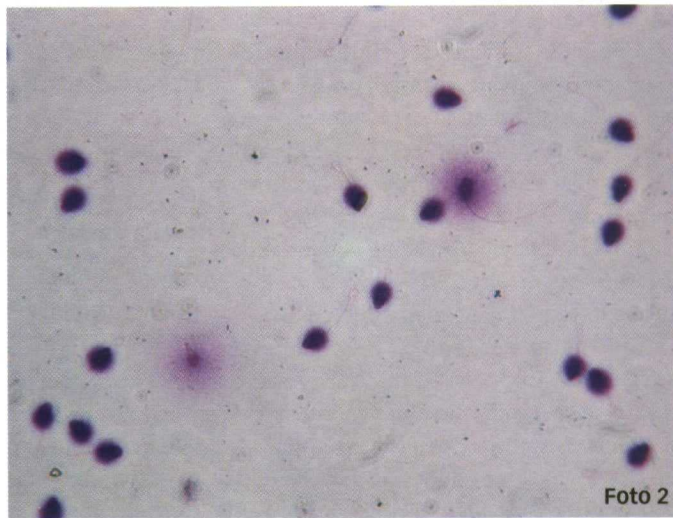


Foto 2

Espermatozoides de verraco sometidos a la técnica SCD (Sperm-Sus-Halomax, Chromacell,) para la evaluación del nivel de fragmentación de ADN con microscopía de fluorescencia (fluorocromo Sybr-Green; **Foto 1**) o de campo claro (tinción de Wright; **Foto 2**). Los espermatozoides con un halo alrededor de la cabeza tienen el ADN fragmentado.

“ *La generalización de la inseminación post-cervical resalta la importancia del análisis de la calidad de los eyaculados* ”

te por el ovocito. Una mala reparación de la molécula de ADN impedirá un desarrollo embrionario normal.

Este problema, no era posible detectarlo hasta ahora, salvo por medio de técnicas poco accesibles y muy costosas. De esta forma, el índice de fragmentación de ADN espermático, un parámetro de indiscutible interés, no se ha incorporado de forma rutinaria en la evaluación de la calidad seminal. En este momento, el test de dispersión de la cromatina (SCD), permite evaluar de forma sencilla y rápida la calidad del ADN en espermatozoides de verraco, teniendo la posibilidad de clasificar y controlar a los animales de un centro de inseminación.

El problema de la evaluación de la calidad seminal es que hasta ahora no existe ninguna prueba que valore todas las características que interesan. Todas ellas son independientes aunque exista cierto grado de interdependencia entre ellas, de forma que el conocimiento de la motilidad no informa del estado de los acrosomas, ni del grado de fragmen-

tación del ADN del espermatozoide. En otras palabras, una buena motilidad espermática, no implica que el eyaculado tenga capacidad fecundante.

Investigación: ensayos realizados

Conscientes de esta problemática, se realizó un estudio de la calidad seminal integrando varios parámetros para estudiar la evolución de los mismos a lo largo del año y tratar de identificar las posibles diferencias individuales en la calidad seminal.

Se recogieron y analizaron un total de 233 eyaculados de 22 verracos, procedentes de varios centros de inseminación españoles durante dos años, desde junio de 2006 hasta junio de 2008. Las pruebas de calidad seminal utilizadas en este estudio fueron: valoración de la motilidad espermática, porcentaje de acrosomas normales, porcentaje de formas anormales e índice de fragmentación del ADN (Sperm-Sus-Halomax, Chromacell).

Los valores medios de calidad seminal obtenidos durante los dos años de estudio en las muestras analizadas se muestran en el **Cuadro I**. Estos valores medios se pueden considerar como normales para la especie y tomando todos los datos de forma global. Considerando los datos correspondientes a cada verraco durante los dos años de estudio, se puede observar la evolución de la calidad seminal de cada uno de ellos, la evolución de cada uno de >>

Organizado por:



VERONAFIERE

En colaboración con:



VERONA 4/7 DE FEBRERO DE 2010 NUEVAS TECNOLOGÍAS ALIMENTAN LA TIERRA



Farm Comunicazione

FIERAGRICOLA

International Agri-business Show

www.fieragricola.com



ZOOSYSTEM

Tecnologías y productos para la ganadería.



AGRISERVICE

Hobby farming, gestión del paisaje y multifuncionalidad.



AGRIMECCANICA

Innovaciones tecnológicas y mecánicas para la agricultura.



AGRIPIAZZA

Agrofármacos, fertilizantes, semillas.



BIOENERGY EXPO

Energías de fuentes renovables.



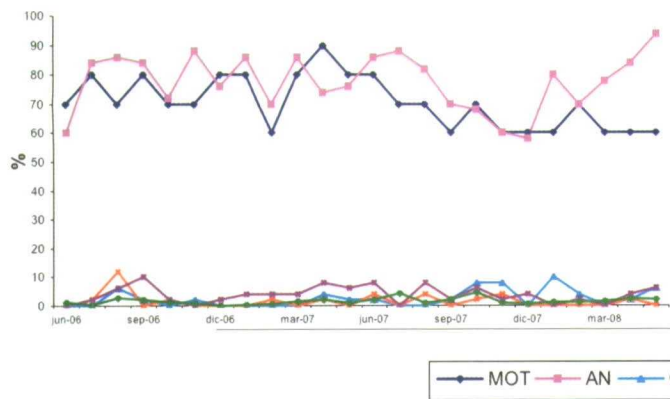


Figura 1. Grupo 1. Buena calidad en todos los parámetros.

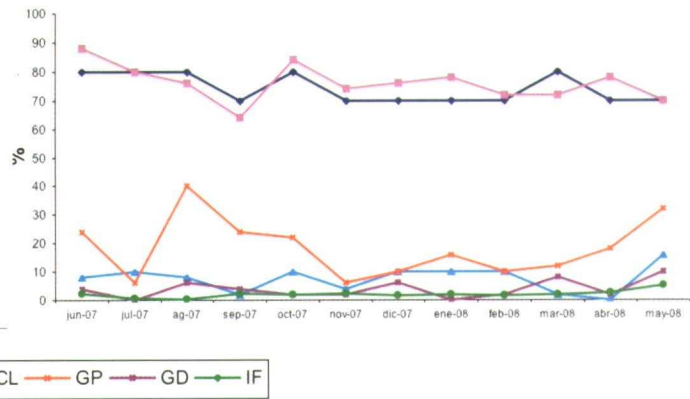


Figura 2. Grupo 2. Calidad variable con IF bajo.

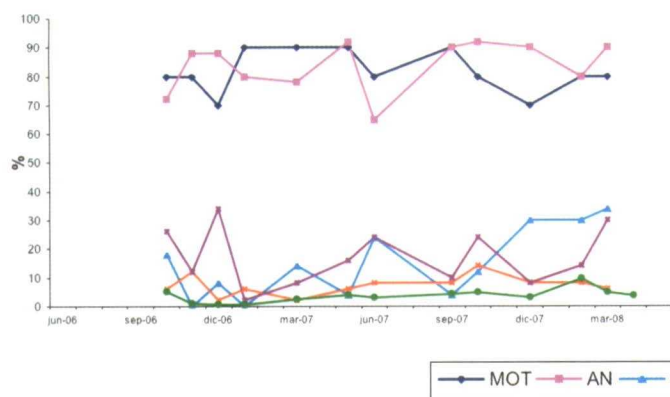


Figura 3. Grupo 3. Calidad variable en todos los parámetros.

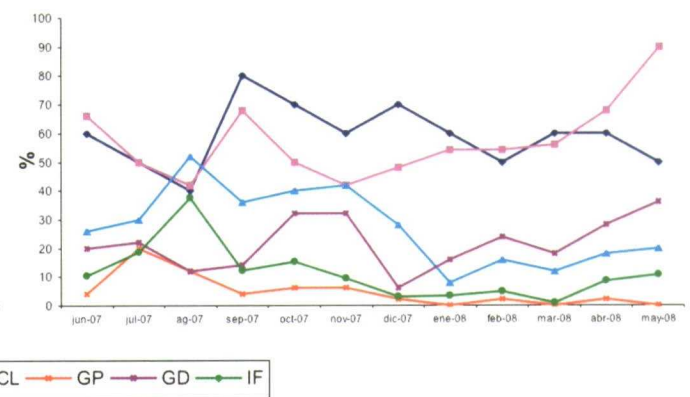


Figura 4. Grupo 4. Mala calidad en todos los parámetros.

los parámetros de calidad dentro de cada verraco y las diferencias que hay entre verracos en dicha evolución (Figuras 1 a 4).

Estudiando los datos detenidamente, se ha encontrado que existen varios casos posibles de coincidencia o discrepancia entre los parámetros de calidad seminal, y se han clasificado en cuatro grupos:

- Grupo 1: Buena calidad en todos los parámetros.
- Grupo 2: Calidad variable en motilidad, acrosomas y de formas anormales, pero bajo índice de fragmentación del ADN.
- Grupo 3: Calidad variable con oscilaciones marcadas en todos los parámetros.
- Grupo 4: Mala calidad en todos los parámetros.

Los resultados que se presentan en este trabajo, muestran una vez más, que la calidad seminal, puede estar asociada a cada individuo. Esto abre la posibilidad de poder predecir la calidad seminal futura de un verraco si se realizan estudios de manera periódica.

Aunque en trabajos anteriores los autores encontraron una relación significativa entre la incidencia de morfoanomalías, sobre todo las que indican inmadurez de los espermatozoides, y el IF ADN, no se puede asegurar que todos los eyaculados con un alto porcentaje de formas anormales van a presentar un alto índice de fragmentación del ADN, como se puede ver en los casos estudiados.

Por tanto, el análisis de motilidad por sí solo no basta para valorar la calidad seminal de forma completa. El estado de los acrosomas puede variar más, ya que la membrana del acrosoma es muy sensible a los cambios bruscos de temperatura. Así mismo, el IF ADN no está relacionado siempre con el resto de características seminales. Un espermatozoide con buena motilidad y un estado óptimo de los acrosomas puede contener ADN fragmentado.

Estos resultados indican que si se quiere obtener una información fiable sobre la calidad seminal real de un eyaculado, se tiene que realizar todas las

pruebas a nuestro alcance que analicen todos los aspectos que caracterizan el estado y la función del espermatozoide.

Este análisis completo debería realizarse desde el momento en el que se está seleccionando al verraco como donante de semen para la inseminación artificial. Sería un análisis inicial en el que se valoraría la calidad seminal del verraco, con todos los parámetros comentados. Posteriormente, debería repetirse este control completo al menos una vez cada 2 ó 3 meses (análisis periódico), ya que, como se puede comprobar en las gráficas de resultados, la calidad de cada parámetro puede variar y siempre lo hará de forma independiente de los demás.

Se ha observado en otros estudios que el índice de fragmentación del ADN espermático puede verse afectado por infecciones bacterianas o víricas del individuo, periodos febriles, estrés, episodios de aumento de temperatura ambiental. Por tanto, la realización de este análisis periódico sería aconsejable.

Como conclusión, hay que insistir en la importancia de la evaluación completa del eyaculado, para que otros esfuerzos que se están realizando hacia la mejora de los resultados de inseminación artificial porcina, como la mejora de la propia técnica de inseminación, no sean en balde. De nada sirve que se depure la técnica de deposición del semen en el cuerpo uterino, si luego se utiliza un semen contrastado deficientemente.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado en el marco del Proyecto “Mejora de las técnicas de congelación de semen y vitrificación de embriones” financiado por la CAM, exp. N° 33/2008 Biotecnología. Agradecer la labor realizada en los trabajos de laboratorio a F. Arroyo de la UAM y a R. A. Millán de Gestión Veterinaria Porcina SL. ■

Bibliografía en poder de la redacción a disposición de los lectores interesados (mundoganadero@eumedia.es)

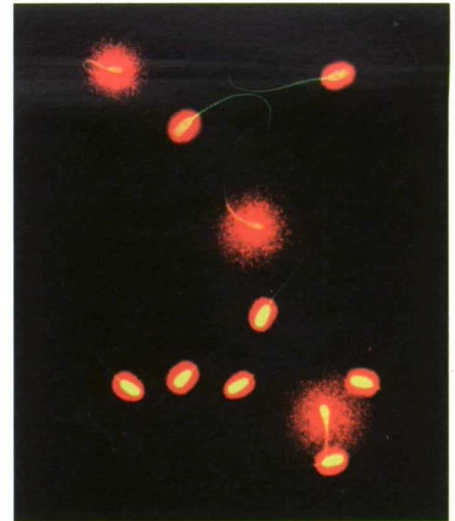


Foto 3. Espermatozoides de verraco procesados con la técnica Sperm Chromatin Dispersion, prueba que permite el análisis rápido de la fragmentación del ADN. Microfotografía realizada con microscopía de fluorescencia y doble tinción combinada con Sybr Green y Gel Red. Los espermatozoides que presentan un halo de cromatina expandida alrededor de la cabeza presentan la molécula de ADN fragmentada.

gestión veterinaria porcina

Diluyentes de semen

SPZ+
(promotor espermático)

Sperm-Sus-Halomax

Catéteres inseminación

Absolute insemination

Servistim

catéteres inseminación

absolute insemination

SPZ+

Servistim

diluyentes de semen

Sperm - Sus - Halomax

gvp

gestión veterinaria porcina

