

7  
28

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**EVALUACION DEL DAÑO ACROSOMAL EN  
ESPERMATOZOIDES DE SEMEN DE CERDO  
ALMACENADO EN BTS**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**  
**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**  
**P R E S E N T A :**  
**GREGORIO AMEZAGA CASTILLO**

**Asesores: MVZ. (s): Joaquín Becerril Angeles**  
**Marco A. Soto Flores**  
**Ricardo Navarro Fierro**

**México, D. F.**

**1 9 8 7**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
RESUMEN . . . . .	1
I INTRODUCCION. . . . .	2
II MATERIAL Y METODOS. . . . .	8
A. Localización y características del Centro de Inseminación Artificial . . . . .	9
B. Animales Experimentales . . . . .	10
C. Grupos Experimentales . . . . .	10
D. Procedimiento Experimental. . . . .	12
E. Análisis Estadístico Experimental . . . . .	17
III RESULTADOS . . . . .	18
IV DISCUSION . . . . .	21
V CONCLUSIONES. . . . .	24
VI LITERATURA CITADA . . . . .	25

## RESUMEN

AMEZAGA CASTILLO GREGORIO "Evaluación del daño acrosomal en espermatozoides de semen de cerdo almacenado en BTS" (Bajo la dirección de Joaquín Becerril Angeles, Marco A. Soto Flores y Ricardo Navarro Fierro).

Se realizó un estudio para determinar el efecto del tipo de eyaculado, raza del semental y tiempo de almacenaje sobre la motilidad y presencia de espermatozoides con acrosoma normal (NAR) en semen almacenado en el diluyente Beltsville Thawing Solution (BTS). Se utilizaron cuatro verracos: Un Duroc, un Hampshire, un Yorkshire y un Landrace que fueron colectados por el método de la mano enguantada, cinco veces para el eyaculado completo (EC) y cinco para la fracción rica en espermatozoides (FR) alternadamente cada siete días. Se prepararon dosis para inseminación artificial con  $5 \times 10^9$  espermatozoides en 100 ml. La motilidad se evaluó con microscopio simple y los espermatozoides con NAR se contaron con microscopio de contraste de fases. Ambas mediciones se hicieron antes de diluir el semen, inmediatamente después de diluirlo y posteriormente a las 24, 48, 72 y 96 horas. El tiempo de almacenaje afectó considerablemente la motilidad y la cantidad de espermatozoides con NAR. La motilidad media disminuyó de 50.9 en el semen recién diluido a 1.1% a las 96 horas, los NAR bajaron de 86.6 a 63.7%. Ambas características variaron significativamente entre sementales y con el tiempo de almacenaje ( $P < 0.01$ ). Los porcentajes de motilidad, incluyendo los datos desde las cero hasta las 96 horas, fueron: Duroc 26.8, Hampshire 29.5, Yorkshire 30.4 y Landrace 26.6%, y los espermatozoides con NAR: 78.4, 76.7, 79.2 y 76.8 % en el mismo orden. El EC fue mejor ( $P < 0.05$ ) que la FR para conservar espermatozoides con NAR (78.3 vs 77.3), pero no fueron distintos en motilidad (28.4 vs 28.2) respectivamente. El comportamiento del EC y FR fue diferente por semental, el Yorkshire mantuvo mejores porcentajes de motilidad y NAR en ambos eyaculados que los otros machos.

**I N T R O D U C C I O N**

La reproducción y el crecimiento constituyen los dos procesos biológicos fundamentales de la producción animal. A los procesos reproductivos y a sus resultados les corresponde la máxima importancia zootécnica y económica, por ser la base de la cría como de la producción. Dentro de la producción porcina, la inseminación artificial (IA) juega un papel muy importante como factor zootécnico y de organización para lograr una producción más intensiva. La implementación de su uso ha permitido aumentar en muchas veces la capacidad reproductiva de los verracos, mejorar ampliamente los programas reproductivos mediante la sincronización del estro y mejoramiento genético, además en los hatos en que se utiliza la IA el progreso zootécnico es más rápido, puesto que los animales utilizados, cuya calidad genética ha sido comprobada y calificada positivamente mediante pruebas de comportamiento, incrementan el nivel de producción de la siguiente generación, gracias a su aporte genético (14, 19). No obstante, su ejecución requiere de personal capacitado y material adecuado, por otra parte, por medio del semen existe la posibilidad de transmitir ampliamente enfermedades a las cerdas inseminadas y consecuentemente a la granja (14, 29). El grado de eficacia de la aplicación del semen por medio de instrumentos, es distinto en las diferentes especies animales.

La obtención de buenos resultados en la IA en cerdos depende del nivel de desarrollo de las técnicas de procesamiento, conservación y aplicación del semen, las cuales han tenido grandes avances en las últimas décadas. El desarrollo de técnicas adecuadas de congelación y descongelación del semen lo han llevado a una ilimitada preservación para su utilización, pero a causa del alto costo del material usado para ello, a lo laborioso.

del método y a los bajos porcentajes de sobrevivencia espermática después del descongelamiento, que resulta en bajos porcentajes de concepción cuando se insemina, ha causado que el método de preservar y utilizar semen con gelado sólo se realice para semen de verracos de gran valor genético o para preservar semen de las mejores razas (4,20).

En la IA la dilución espermática interesa sobre todo para conservar la capacidad fecundante del espermatozoide, así como incrementar el rendimiento del eyaculado. El uso del semen diluido ha sido más amplio, gracias a que su implementación es más económica. Desde la década de los sesentas se ha desarrollado diluyentes efectivos que preservan la capacidad fertilizante del espermatozoide y actualmente los diluyentes más utilizados son el Beltsville Thawing Solution (BTS), Kiev o Gualph, Beltsville Liquid Extender (BL-1), Illinois Variable Temperature (IVT), el SCK-7, Milk Extender y Zorlesco (4, 10, 24).

Experimentos comparativos a nivel de campo han situado al diluyente BTS como el mejor preservador de la integridad y funcionalidad del espermatozoide de cerdo para la IA (1, 2, 3, 10, 22), seguido por el Kiev (10, 11, 19, 20). Aalbers et al. (2), compararon la fecundidad del semen de cerdos almacenado en BTS, Kiev, Zorlesco y Modena a  $18^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  utilizando dosis con una concentración de  $3 \times 10^9$  espermatozoides y aplicadas en diferentes granjas al tercer día de colección, encontraron porcentajes de pariciones que variaron de 59 a 100% para BTS; 47 a 87% para Kiev; 50 a 73% en Zorlesco y 49 a 74% en Modena.

En otro experimento, Pursel (22), al comparar los diluyentes BL-1, BTS, Kiev y Modena a tres temperaturas diferentes (15, 19 y 23°) y a siete días de almacenaje en dos diferentes tipos de tubo conteniendo cada uno 70 ml con una concentración de  $40 \times 10^6$  espermatozoides por ml, encontró que el porcentaje de motilidad en semen almacenado en BTS fue superior al almacenado en los otros diluyentes. El porcentaje de espermatozoides con NAR fue similar en BTS y Kiev y disminuyó significativamente en el BL-1 y en el Modena.

En otro experimento Aalbers et al. (1), utilizaron semen diluido en BTS y almacenado a 16-18°C por períodos de 2 a 10, 20 a 28, 26 a 34 y 44 a 52 horas. El porcentaje de espermatozoides con NAR fue 71.1, 77.2, 61.5 y 61.6, respectivamente. Al inseminar cerdas primerizas obtuvieron porcentajes de pariciones de 75.6 a 76.4 y tamaño de la camada de 9.4 a 9.7, estos resultados no fueron afectados significativamente por el tiempo de almacenaje. Por otro lado cuando inseminaron cerdas adultas, el porcentaje de pariciones fue significativamente superior para el semen almacenado de 20 a 28 horas, que para el semen almacenado 44 a 52 horas (82.9 vs 78.5).

El espermatozoide de cerdo es muy sensible al cambio de temperatura, ya sea, disminución o aumento la primera es más detrimental sobre la morfología del espermatozoide que la segunda (4,8). Esto exige que el semen después de diluido se mantenga a un rango de temperatura de almacenaje de entre 15 y 18°C que es el ideal (10). Mantener este rango es difícil si el semen se transporta a otros lugares para su utilización.



Por otro lado, durante el procesamiento del semen para su dilución y almacenamiento ocurren cambios en la motilidad y morfología acrosomal (9,32), que se incrementan durante el período de almacenaje debido a la presencia de proteínas básicas del plasma seminal que aumentan la permeabilidad celular del espermatozoide, permitiendo la salida de proteínas, cationes celulares y enzimas como la transaminasa glutámica oxaloacética, hialuronidasa, acrosina y otras (5, 16, 17, 21, 27, 32), que se consideran necesarias para apoyar el proceso de capacitación o maduración espermática (23), además el acúmulo de productos metabólicos como amoníaco, ácido láctico, pirúvico y carbónico, también dañan al espermatozoide (13,21). Lo anterior ha motivado que el semen se utilice durante los primeros dos o tres días después de diluido, ya que su aplicación después de este período no es costosa, pues resulta en bajos porcentajes de concepción, mayor riesgo de reabsorción embrionaria por gametos viejos y, en consecuencia, camadas pequeñas. (2, 3, 10, 20, 24). Vengust et al (32), utilizando semen diluido en Tris encontraron que el porcentaje de motilidad y espermatozoides con NAR disminuyó gradualmente conforme al manejo y tiempo de almacenaje a que sometieron el semen. La motilidad y espermatozoides con NAR fue: semen fresco 83 y 87%; después de la dilución 75 y 82%; después de la equilibración 73 y 74%; después del almacenaje a temperatura ambiente por 72 horas 54 y 62% y después del descongelamiento 39 y 55% respectivamente. Por otra parte Strzerek et al (27), diluyeron semen en diferentes medios y lo almacenaron por 24 y 72 horas a 18-20°C, encontrando que esto resultó en un considerable incremento en la actividad de ciertas enzimas como la acrosina y aspartatoamino transferasa y en el consumo O<sub>2</sub>. En otro experimento Strzerek et al. (26), evaluaron los cambios bioquímicos y morfológicos

que ocurrieron en el semen diluido en Kiev. En semen diluido fresco los porcentajes de motilidad y espermatozoides con NAR fueron 74 y 90.1% respectivamente. Después de 60 horas de almacenaje a temperatura ambiente el porcentaje de espermatozoides con NAR estuvo relacionado significativamente con la motilidad y actividad enzimática, la motilidad también estuvo relacionada significativamente con la actividad enzimática.

Como es inevitable el daño que sufren algunos espermatozoides durante su almacenaje y dada la importancia de su integridad y fisiología al momento de inseminar, se considera necesario que para evaluar el semen, no sólo se evalúe por el método de motilidad, sino también se evalúe determinando el porcentaje de espermatozoides con NAR pues junto con esto, sería un mejor criterio para valorar la calidad del semen, ya que algunos espermatozoides aunque presentan motilidad progresiva también presentan daño acrosomal (12, 21, 26, 27, 28, 30, 31). Al obtener los resultados de motilidad y daño acrosomal a diferentes períodos de almacenaje, se puede decidir cual es el tiempo máximo para poder utilizarlo en la IA, sin tener un decremento significativo en su capacidad fertilizante.

El propósito de este trabajo fue evaluar los porcentajes de motilidad y daño acrosomal en los espermatozoides almacenados en BTS a diferentes períodos, incluyendo cardos de varias razas.

**MATERIAL Y METODOS**

A. LOCALIZACION Y CARACTERISTICAS DEL CENTRO DE IA

El estudio se realizó en el Laboratorio de inseminación artificial de la Granja Experimental Porcina Zapotitlán, dependiente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicada en la calle Manuel M. López S/N en el pueblo de Zapotitlán, delegación de Tlāhuac, D.F. Geográficamente está ubicada en la cuenca del Valle de México, a 19° 18' de latitud Norte y a 99° 2' 30" de longitud oeste del meridiano de Greenwich, a una altura sobre el nivel del mar de 2,242 metros y con una presión de 588 mm de Hg., según la clasificación de climas de Koeppen, ésta región pertenece al tipo (cw), templado con lluvias en verano (15).

Las colecciones de semen se realizaron entre los meses de Octubre a Diciembre de 1986. Los verracos utilizados en el Centro de Inseminación Artificial para la colección de semen, son entrenados para la monta en potro o maniquí a los seis o siete meses de edad. Cuando el verraco ha aprendido a montar el potro y a ser colectado se le destina a un corral individual recibiendo diariamente dos kg. de alimento balanceado. Cada semental tiene un registro de evaluación de semen, el cual se complementa de acuerdo a los resultados obtenidos en cada colección. El semen se evalúa en forma rutinaria para determinar su calidad en la elaboración de dosis para inseminación artificial. El ritmo de colección para cada semental en el Centro de IA es de un eyaculado por semana.

## B. ANIMALES EXPERIMENTALES

Para la colección de semen se utilizaron cuatro verracos: un Hampshire, un Duroc, un Yorkshire y un Landrace de doce, doce, once y quince meses de edad respectivamente.

Los cuatro sementales fueron vacunados y desparasitados de acuerdo al programa de vacunación y desparasitación del Centro de I.A. y son parte del grupo de verracos utilizados para la colección de semen en el Centro de I.A.

## C. GRUPOS EXPERIMENTALES

Cada semental fue colectado como grupo diez veces a intervalos de siete días entre colección. Se empezó colectando el eyaculado completo de un semental por día, obteniendo así los cuatro eyaculados en cuatro días. En la siguiente colección se obtuvo sólo la fracción rica en espermatozoides del eyaculado de cada semental y así se siguió colectando alternadamente hasta completar cinco colecciones de eyaculado completo y cinco de fracción rica para cada semental.

Los grupos se integraron de la siguiente manera:

DISEÑO EXPERIMENTAL

	DUROC*		HAMPSHIRE*		LANDRACE*		YORKSHIRE*	
	EC	FR	EC	FR	EC	FR	EC	FR
Al colectar	5	5	5	5	5	5	5	5
0 horas	5	5	5	5	5	5	5	5
24 horas	5	5	5	5	5	5	5	5
48 horas	5	5	5	5	5	5	5	5
72 horas	5	5	5	5	5	5	5	5
96 horas	5	5	5	5	5	5	5	5

\* Un semental por raza, 10 eyaculados por semental.

EC Eyaculado completo

FR Fracción Rica en espermatozoides.

#### D. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

La colección del semen se realizó entre las 9 y 10 de la mañana utilizando la técnica de la mano enguantada (7), que es el método preferido para la colección de semen de verraco. Esta técnica puede utilizarse en cerdos entrenados para montar potro o maniquí o en cerdos de monta natural, para los cuales se utilizaría una cerda en calor estática.

En la técnica se utiliza un guante de hule latex que se pone en la mano con que se colectará, ésta se coloca en forma de cono a unos 5 cm del orificio prepucial y con el dorso de ella pegado al vientre del verraco, cuando éste desembaina el pene se toma la punta curvada del glande y se aplica ligera presión hasta que esté totalmente desembainado y erecto, momento en el cual comenzará a eyacular.

Antes de coleccionar el eyaculado se evacuaron la orina residual y otros detritus que existen en los sacos prepuciales, ya que son nocivos para los espermatozoides.

El verraco fue llevado desde su corral hasta el corral de colección donde hay un maniquí para monta.

El eyaculado fue obtenido en un recipiente térmico de plástico, al cual se le adaptó en su interior una bolsa de polietileno y en la boca se le colocó un embudo de plástico con una gasa de algodón como filtro para eliminar la porción gelatinosa del semen. Una vez termi-

nada cada colección, el semen se trasladó inmediatamente al laboratorio para su evaluación y procesamiento como sigue:

1) MOTILIDAD

Llegando al laboratorio, se procedió a evaluar en porcentajes la motilidad progresiva de los espermatozoides del semen. Con una pipeta Pasteur se cogió una gota de semen y se colocó entre un porta y un cubreobjetos colocados sobre una termoplatina con temperatura entre 35 y 37°C. Se observó primero con el objetivo panorámico, pasándose después al seco débil y terminando por observar con el seco fuerte.

La observación anterior se repitió dos o tres veces con diferentes gotas.

2) MORFOLOGIA

Se determinó el porcentaje de espermatozoides anormales de cada eyaculado por medio de un frotis utilizando un colorante de Eosina-Nigrosina (7). El frotis se realizó poniendo una gota del colorante y una gota de semen en un portaobjetos limpio, se mezclaron ambas gotas con otro portaobjetos y se tomó con el mismo una pequeña cantidad de la mezcla, haciendo la impresión en otra laminilla limpia y sin grasa y con un ángulo de 45°. Cuando el frotis estuvo hecho se observó con el microscopio simple utilizando el objetivo seco fuerte, se procedió a contar 200 células espermáticas y se determinó el porcentaje de es-



permatozoides anormales en el eyaculado.

### 3) CONCENTRACION

Utilizando una pipeta de Thoma se hizo una dilución de 1:200 tomando como soluto el semen y como solvente una solución de Citrato de Sodio con formalina. Con la pipeta se tomó hasta 0.5 de semen y luego se completó hasta 100 con la solución de Citrato de Sodio. Posteriormente se agitó ligeramente y se tiraron las dos primeras gotas de la dilución, se colocó una siguiente gota en cada una de las áreas de una cámara cuenta globos (cámara de Neubauer) y se procedió a contar de la siguiente manera: cada área tiene un cuadrulado de 25 cuadros, se tomaron en cuenta únicamente los cuadros de las esquinas y el del Centro, en ellos se contaron solamente los espermatozoides que estaban dentro de cada cuadro y los que estaban en el lado izquierdo y superior con la cabeza hacia dentro. Se sumó el número de espermatozoides contados en cada área y se dividió entre dos para obtener el número promedio. Para obtener la concentración espermática por ml de eyaculado se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Número de espermatozoides/ml} = \frac{\text{Número de esp.}}{\text{contados}} (1/10000) (1000)$$

### 4) CALCULO DE DOSIS

Para calcular el número de dosis por eyaculado se realizó el siguiente procedimiento:

Número total de espermat./eyaculado =  $\frac{\text{Volumen del (eyaculado)}}{\text{Número de (espermat./ml)}}$

Espermatozoides vivos =  $\frac{\text{No. total de (espermat.)}}{(\% \text{ de motilidad})}$

Espermatozoides vivos totales =  $\frac{\text{Espermatozoides vivos}}{(\% \text{ de espermat. anormales})}$

Espermatozoides vivos por inseminación = 5 mil millones

Número de dosis por eyaculado =  $\frac{\text{Espermatozoides vivos totales}}{5 \text{ mil millones de espermatozoides}}$

Cantidad de ml de semen por dosis\* =  $\frac{\text{Volumen del eyaculado}}{\text{No. de dosis}}$

\* Para completar el volumen necesario para inseminar se aumentó diluyente BTS estéril.

## 5) DILUCION

Para preparar las dosis se realizaron diluciones isotérmicas, estas tuvieron una concentración de  $5 \times 10^9$  espermatozoides en un volumen total de 100 ml.

Para la dilución se utilizó el diluyente Beltsville Thawing Solution (BTS) (4), mantenido en congelación en botellas de plástico. Para la dilución se descongeló y su temperatura se igualó a la del semen colectado y mantenido en el termo entre 32 y 35 °C, cuando la temperatura de ambos fue igual se realizó la mezcla, depositando el semen en el diluyente, desliziéndolo suavemente por la pared del recipiente y homogenizando la mezcla con una varilla de vidrio limpia y ti-

bia.

Las dosis se almacenaron en botellas de plástico forradas con papel para proteger a los espermatozoides de la luz solar, ellas fueron colocadas en una caja de poliuretano cerrada para guardarlas a una temperatura entre 15 y 18°C. La caja se mantuvo en el laboratorio.

#### 6) EVALUACION DE LAS MUESTRAS

En el semen recién colectado se valoró el volúmen total del eyaculado y concentración espermática.

Los porcentajes de motilidad y espermatozoides con NAR, fueron evaluados en las muestras a seis diferentes tiempos: Antes de diluir el semen, inmediatamente después de diluido (cero horas), a las 24, 48, 72 y 96 horas despues de la dilución.

Cuando se evaluó la motilidad, a partir de las 24 horas de la dilución, la dosis se mantuvo en un baño maría durante 5 minutos a una temperatura de 37°C y la toma de la gota y su observación en el microscopio se realizó de la manera ya descrita.

Para evaluar la morfología acrosomal se tomaron dos o tres gotas de semen diluido o no diluido de acuerdo al período de almacenaje, y se mezclaron con 3 ml de solución de Hancock (6), se tomó una gota y se colocó entre un porta y cubreobjetos, posteriormente se obser-

vó en microscopio de contraste de fases con un objetivo pH<sub>3</sub> (100/1.30 0 el), contándose doscientas células espermáticas y determinando de ellas el porcentaje de acrosomas normales presentes en la muestra.

#### E) ANALISIS ESTADISTICO

Para evaluar el efecto del tiempo de almacenaje, tipo de eyaculado y raza del semental sobre los porcentajes de motilidad y de espermatozoides con NAR, se utilizó un análisis de varianza factorial, en el cual se incluyó el efecto del tiempo de almacenaje, tipo de eyaculado y la interacción de ambos, considerando que el efecto del semental, al no haber repeticiones, está completamente confundido con raza, y aplicando la transformación de BLISS (25), que indica:

$Y_t = \text{Arco seno} \left( \sqrt{\text{Proporción}} \right)$ , donde  $Y_t$  es el dato transformado y "Proporción" es el porcentaje expresado como fracción de uno.

RESULTADOS

Al analizar los resultados, se encontró que durante el tiempo de almacenaje disminuye la motilidad y la cantidad de espermatozoides con acrosoma normal, según se muestra en el cuadro 1. Los porcentajes de motilidad y espermatozoides con acrosoma normal fueron mayores en el semen sin diluir; la motilidad disminuyó drásticamente al hacer la dilución. Ambas características disminuyeron con el tiempo de almacenaje.

CUADRO 1 TASA DE MOTILIDAD Y ESPERMATOZOIDEOS CON ACROSOMA NORMAL DE ACUERDO AL TIEMPO DE PRESERVACION

TIEMPO DE ALMACENAMIENTO	MOTILIDAD		ACROSOMAS NORMALES	
	$\bar{X}$	DE	$\bar{X}$	DE
Semen sin diluir	77.6250	2.5287	90.3500	1.5616
Semen diluido				
0	50.8750	6.5913	86.6250	2.7891
24	26.5000	9.4868	81.1000	3.0365
48	10.0750	5.3799	75.2250	3.2776
72	3.6250	5.3906	69.5750	3.6154
96	1.0750	3.3542	63.7250	4.5629

En el cuadro 2 se observa por sementales que a las 48, 72 y 96 horas de almacenaje, el cerdo Yorkshire mantuvo mejores porcentajes de motilidad y espermatozoides con NAR, mientras que el Landrace tuvo los porcentajes mas bajos. Al comparar los promedios para los porcentajes de motilidad y acrosomas normales de acuerdo

al tiempo de almacenaje y raza del semental, se encontró que éstas variaron significativamente ( $P < 0.01$ ).

El eyaculado completo presentó porcentajes de motilidad mas baja que la fracción rica antes de la dilución, pero a las 24, 48 y 96 horas posdilución el EC presentó porcentajes ligeramente mas altos que la FR, (gráfica 1).

Por otro lado del porcentaje de espermatozoides con NAR fue igual en los dos tipos de eyaculado antes de la dilución, manteniendo porcentajes mas altos significativamente ( $P < 0.05$ ) a diferentes periodos el EC, (gráfica 2).

PORCENTAJES DE MOTILIDAD Y ESPERMATOZOIDES CON ACROSOMA NORMAL  
FOR SEMENTAL DE ACUERDO A LAS HORAS TRANSCURRIDAS DE PRESERVACION

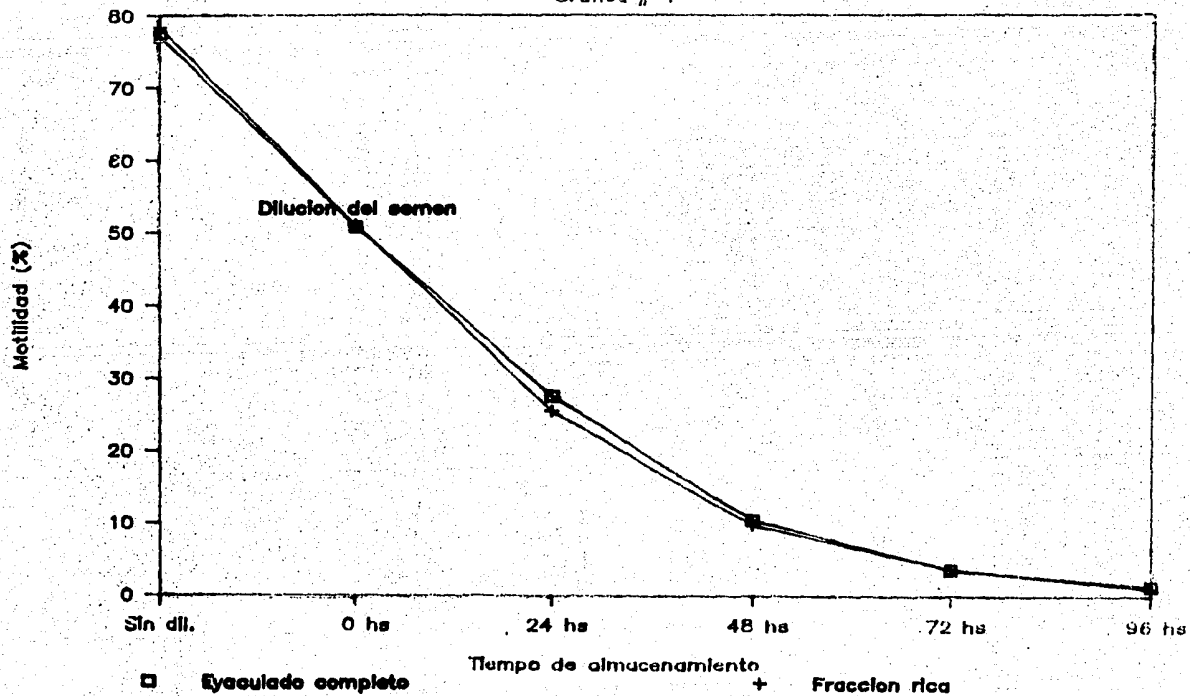
CUADRO # 2.

SEMENTAL	TIEMPO DE PRESERVACION	MOTILIDAD			ACROSOMAS NORMALES		
		$\bar{X}$	$\pm$	DE	$\bar{X}$	$\pm$	DE
DUROC	SEMEN SIN DILUIR	78.0000		2.5820	90.7000		1.1595
	SEMEN DILUIDO 0	49.5000		8.9598	86.7000		2.6687
	24	22.0000		9.7753	81.6000		2.7568
	48	8.0000		3.4960	76.4000		3.3400
	72	2.6000		2.5473	71.0000		3.0185
	96	0.5000		1.0801	64.4000		5.9852
HAMPSHIRE	SEMEN SIN DILUIR	78.5000		2.4152	89.7000		2.0028
	SEMEN DILUIDO 0	56.0000		5.1640	86.0000		3.3993
	24	29.5000		8.6442	79.6000		3.0984
	48	10.0000		2.3570	73.7000		2.2632
	72	2.8000		3.4254	67.9000		3.0714
	96	0.3000		0.9487	63.0000		3.6818
YORKSHIRE	SEMEN SIN DILUIR	77.0000		2.5820	91.2000		1.2293
	SEMEN DILUIDO 0	49.0000		5.6765	88.3000		1.5670
	24	29.5000		9.2646	82.7000		2.5408
	48	15.5000		7.2457	76.5000		2.4608
	72	7.6000		8.9468	71.2000		3.1198
	96	3.5000		6.1509	65.0000		4.2947
LANDRACE	SEMEN SIN DILUIR	77.0000		2.5820	89.8000		1.3984
	SEMEN DILUIDO 0	49.0000		3.1623	85.5000		2.7588
	24	25.0000		9.4281	80.5000		3.2059
	48	6.8000		2.3944	74.3000		4.1647
	72	1.5000		1.7795	68.2000		4.2374
	96	0.0000		0.0000	62.5000		4.2230

La diferencia entre sementales y tiempo de almacenaje  
para la motilidad y acrosomas normales fue significativa ( $P < 0.01$ )

# Motilidad conforme el tipo de eyaculado

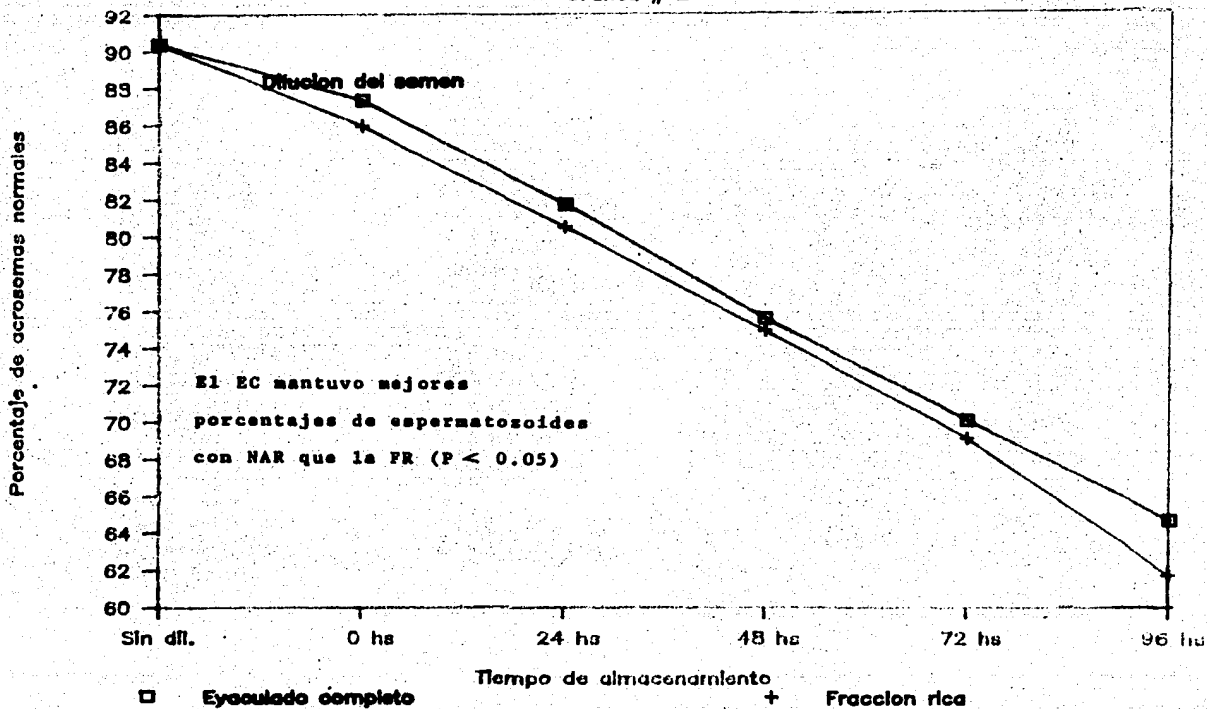
Grafica # 1





# Acrosomas normales en cada eyaculado

Grafica # 2



**D I S C U S I O N**

El procesamiento, tipo de eyaculado y el tiempo de almacenaje del semen diluido de cerdo para IA, afecta significativamente la motilidad progresiva y la cantidad de espermatozoides con NAR, debido a que los espermatozoides sufren cambios irreversibles en su motilidad y morfología acrosomal durante el manejo en el laboratorio (9,28,32). Por otra parte, las proteínas básicas del plasma seminal incrementan la permeabilidad de la membrana espermática, lo que resulta en la salida de enzimas citoplasmáticas como la transaminasa glutámica oxaloacética, Lactatodeshidrogenasa, hialuronidasa y otras, lo cual vuelve al espermatozoide más susceptible al daño durante el almacenaje (5,16,17,26). La liberación de amoníaco, ácidos carbónico, pirúvico y láctico de su propio metabolismo también afecta su integridad (13,21,27).

Los resultados son parecidos a los obtenidos por Vengust et al. (32), al utilizar semen diluido en Tris y someterlo a diferentes grados de procesamiento, los porcentajes de motilidad y de espermatozoides con NAR fueron: semen fresco 83 y 87, semen después de diluido 75 y 82, después de la equilibración 73 y 74, después de almacenarlo por 72 horas a temperatura ambiente (15-18°C) 54 y 62%, respectivamente.

Por otra parte Strzerek et al. (27), encontraron que el almacenamiento de semen diluido entre 18 y 20°C por 24 a 48 horas, resultó en un considerable incremento en la actividad de acrosina, aspartato aminotransferasa y consumo de O<sub>2</sub> lo que afectó detrimentalmente a los espermatozoides.

La motilidad disminuyó más rápidamente que el porcentaje de espermatozoides con NAR durante el almacenaje, debido a que la primera es la más

afectada por el enfriamiento y a que el espermatozoide de cerdo es muy sensible a éllo, además de afectarse también por su actividad enzimática durante el almacenaje (4,26,28).

Aunque las condiciones de procesamiento y almacenaje del semen fueron iguales para los cuatro sementales, además de que la edad fue aproximadamente igual para todos, hubo diferencias entre sementales en los resultados obtenidos de motilidad y espermatozoides con NAR; no obstante, éstos estuvieron dentro de los rangos obtenidos en otros trabajos (2,6,8,20). Las diferencias observadas entre sementales, pueden haberse debido a variabilidad individual expresada en los diferentes grados de anomalías espermiáticas que existieron en el semen de cada uno.

El EC se comportó significativamente mejor que la FR, para conservar espermatozoides con NAR, aunque no significativamente para la motilidad. Moore et al. (16) mencionan que los espermatozoides de EC son más susceptibles al choque frío que los de FR, pero se debe considerar que en este trabajo, los dos tipos de eyaculado no fueron sometidos a este choque. Por otro lado la presencia de electrólitos en el EC como sulfatos, fosfatos, tartratos y otros tienen efecto protector sobre los espermatozoides y esos electrólitos estarían en menor concentración en la FR (21). Paquignon et al. (18), utilizó EC y FR diluidos en Kiev y almacenados a diferentes períodos, al inseminar cerdas encontraron que el porcentaje de pariciones, fue significativamente superior para el EC que para la FR, esto sugiere que el EC fue mejor que la FR en conservar a los espermatozoides.

## C O N C L U S I O N E S

En las condiciones en que se procesó y evaluó el semen, se considera que el tiempo máximo de almacenaje para su utilización en la IA es de 48 horas, tiempo en que se obtuvo 10 y 75% de motilidad y espermatozoides con NAR respectivamente. Tales resultados deberían ser corroborados con estudios donde se insemine cerdas utilizando semen a diferentes períodos de almacenaje.

La utilización de EC en lugar de FR para preparar semen diluido resultó mejor, puesto que mantiene en mejores condiciones fisiológicas al espermatozoide.

**LITERATURA CITADA**

1. Aalbers, J. G.; Johnson, L. A.; Rademaker, J. H. M. and Grooten, H. J. G.: Use of boar spermatozoa for A. I.: Fertility and morphology of semen diluted in BTS and used for insemination Within 24 h. or 25 h. after collection. Pig. News Inf. 6.2: 174 (1985).
2. Aalbers, J. G.; Rademaker, J. H. M.; Grooten, H. J. G. and Johnson, L. A.: Fecundity of boar semen stored in BTS, Kiev, Zorlesco and Modena extender under field condition. J. Anim. Sci. 57 Suppl. 1: 314-315 (1983).
3. Aalbers, J. G. and Smith W. J.: Used of semen more than 24 hours old in pig. A. I. Pig. News Inf. 5,4: 390 (1984).
4. Bamba, K. and Cran, D. G.: Effect of rapid warming of boar semen on sperm morphology and physiology. J. Reprod. Fert.; 75: 133-138 (1985).
5. Berger, T. and Clegg, E. D.: Effect of male accessory gland secretions on sensitivity of porcine sperm acrosomes to cold shock, initiation of motility and loss of cytoplasmic droplets. J. Anim. Sci. 60. 5: 1295-1302 (1985).
6. Hancock, J. L.: The morphology of boar sperm. J. Roy. Micro. Soc. 76:84 (1957).
7. Hurlgen, J. P.: Reproductive examination of the boar. J. Soc. Theriogen. XIII. 1984.
8. Im, K. S. and Chung, C. Y.: Studies on the storage of fresh and frozen boar semen. Pig. News Inf. 2. 1: 72 (1981).
9. Jones, R. C.: The plasma membrane of ram, boar and bull spermatozoa. J. Reprod. Fert. 33:179-183 (1973).

10. Johnson, I. A.; Aalbers, J. G.; Willems, C.M.T.; Rademaker, J.H.M. and Rexroad, Jr. C.E.: Use of boar spermatozoa for artificial insemination III. Fecundity of boar spermatozoa stored in Beltsville liquid and Kiev extenders for three days at 18°C. J. Anim. Sci.: 54 1:132-136. (1982).
11. Johnson, L. A.; Aalbers, J. G.; Willems, C.T.M. and Rademaker, J.H.M.; Fertility of boar semen stored in BL-1 and Kiev extenders at 18°C for three days. Pig. News Inf. 2 4:415 (1981).
12. Kennedy, U. P.; Swift, Ann, M.; Parrish, R.F. and Polakiski, K.L.: Proacrosin conversion inhibitor. J. Biol. Chem. 257,6: 3095-3099 (1982).
13. Khomyak, I.I.: The formation of ammonia during the incubation and storage of boar semen. Pig. News Inf. 5 2:182 (1984).
14. König I.: Inseminación de la cerda. Acribia, Zaragoza, España 1979.
15. Lafranchi, V. E.: Observaciones estacionales sobre algunos parámetros reproductivos del ganado porcino en el Valle de México. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México 1983.
16. Moore, H. D. M.; Hall, G.A. and Hibbitt, K.G.: Seminal plasma proteins and the reaction of spermatozoa from intact boars and from boars with out seminal vesicles to cooling. J. Reprod. Fert. 47: 39-45 (1976).
17. Moore, H. D. M. and Hibbitt, K.G.: The binding of Labelled basic proteins by boar spermatozoa J. Reprod. Fert. 46: 71-76 (1976).
18. Paquignon, M.; Bariteau, F.; Bussiere, J.; Dacheux, J. L. and Courot, M.: Effects of diluent, dilution rate and seminal plasma on the fertility of sows after prolonged semen storage. Pig. News Inf. 4 2:165 (1983).



19. Paquignon, M.; Bussiere, J.; Bariteau, F. and Kerangat, G.: Efficiency of Guelph and SCR-7 diluents for prolonged storage of liquid boar semen. Pig News Inf. 2. 4:416 (1981).
20. Paquignon, M. and Courrot, M.: Advances in boar semen preservation Technology in France.: Pig. News Inf. 2. 4:397-400 (1981).
21. Pérez y P.F.: Reproducción Animal: Inseminación artificial y trasplante de embriones. Científico-Médica, Barcelona, España. 1985.
22. Pursel, V. G.: Preservation of boar semen above 15°C. Effects of storage temperature, extender and container J. Anim. Sci. 57 Suppl. 1:125-126 (1983).
23. Pursel, V. G.: Johnson, L. A. and Rampacek: Acrosome morphology of boar spermatozoa incubated before cold shock. J. Anim. Sci. 34:278-283 (1972).
24. Ramirez, R. R. A.: Evaluación de dos tipos de diluyentes para preservar el semen de cerdo en estado líquido. Tesis de Licenciatura Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1984.
25. Snedecor, G.M. and Cochran, W. G.: Statistical Methods. 6 th ed. The Iowa State University press Ames, Iowa, 1967.
26. Strzezek, J. and Slaweta, R.: Biochemical and Morphological changes in boar semen during storage at 15°-18°C. Pig. News Inf. 7. 1:137 (1985).
27. Strzezek, J.; Smigieleka, J. and Lisinowics, J.: Metabolism of boar semen diluted in different diluents and stored at 18°-20°C. Pig. News Inf. 3. 1:116 (1982).

28. Suzuki, H. and Niwa, T.: Variation in intracellular enzymes, specially glutamic oxalacetic transaminase and hialuronidaze during storage of boar spermatozoa. Pig. News Inf. 5. 1:62 (1984).
29. Thacker, G. J.; Larsen, R. E.; Joo, H. J. and Leman, A. D.: Swine diseases transmissible with artificial insemination. J. Am. Vet. Med. Assoc. 185. 5: 511-516 (1984).
30. Triana, L. R.; Babcock, D.F.; Lorton, S. P.; Firts, N. L. and Lardy H. A.: Release of acrosomal hyaluronidaze follows increased membrane permeability to calcium in the presumptive capacitation sequence for spermatozoa of the bovine and other mammalian species. Biol. Reprod. 23:47-59 (1980).
31. Vázquez, I.: Valoración de acrosomas normales en células espermáticas de verraco. Zoot. 29 :(10-12): 507-512 (1980).
32. Vengust, M.; Illera, M. J.; Senegacnik, J.; Petac, D. and Bester, M.: Relation between some boar semen characters and adaptability to liquid storage and freezing. Pig. News Inf. 5. 4:489 (1984).