



EVALUACION DE LA CAPACIDAD FERTILIZANTE IN VITRO DEL SEMEN PORCINO DESCONGELADO.

Alejandro Córdova *, Yvonne Ducolomb, Irma Jiménez, Eduardo Casas Edmundo Bonilla Y Miguel Betancourt.

* Departamento de Producción Agrícola y Animal, UAM-Xochimilco. Calz. del Hueso 1100 Col. Villa Quietud C.P 04960, Méx., D.F.

RESUMEN

Se desarrolló y estableció una técnica de congelamiento de semen porcino en pajillas y se evaluó su capacidad fertilizante in vitro (FIV). Los espermatozoides descongelados no perdieron sus características de movilidad, capacitación y FIV. El análisis de la motilidad inmediatamente después del descongelamiento mostró un promedio de 50% contra el 80% de movilidad observada en las muestras de semen fresco. Después de 2.5 h, los espermatozoides descongelados presentaron una motilidad promedio de 60% y un promedio de capacitación del 50.2%, utilizando a la reacción acrosomal como un índice de ella. El promedio de FIV con semen descongelado fue de 68% contra 85% con semen fresco y no se observó variabilidad considerable entre las muestras de semen descongelado utilizadas, las cuales provenían de las razas Duroc, Hampshire, Landrace y Spotted. Los resultados indican que la técnica de congelamiento y descongelamiento empleada es altamente reproducible y adecuada para aplicarse en FIV.

INTRODUCCION

El congelamiento y descongelamiento de material biológico, particularmente de células se ha llevado a cabo con éxito desde 1949 cuando Polge y col. reportaron por primera vez el poder crioprotector del glicerol (1) A partir de entonces se han desarrollado diversas técnicas usando glicerol y otros crioprotectores con el fin de conservar una gran diversidad de material biológico como ovocitos, espermatozoides, embriones y células somáticas de diferentes tipos (2,3). En los centros de reproducción animal esta metodología hace posible el óptimo aprovechamiento de los mejores animales reproductores, mediante la conservación de sus gametos para su uso posterior (4,5). La FIV en mamíferos a contribuido de manera importante al conocimiento de los fenómenos reproductivos, ayudando a la optimización de su eficiencia reproductiva (3). En el cerdo la FIV ha sido aplicada en investigación básica y técnicas de producción animal. En el primer caso a contribuido al conocimiento de la biología de los gametos desde su maduración e interacción hasta las primeras etapas del desarrollo embrionario (2) En producción porcina, la FIV puede ser utilizada para reducir intervalo de generación y para producir lechones con valor genético superior (2). Nagai y cols. (3) realizaron FIV en cerdo utilizando espermatozoides congelados epididimarios y eyaculados, teniendo éxito sólo con los primeros. Dada la dificultad para obtener espermatozoides epididimarios, es importante establecer una técnica que permita utilizar espermatozoides eyaculados como alternativa para trabajos de FIV. Por tal razón, el presente trabajo tiene como objetivo establecer una técnica de congelamiento de semen porcino eyaculado y evaluar su capacidad fertilizante in vitro.

MATERIAL Y METODOS.

La técnica establecida, fue el resultado de la integración de diversas metodologías, las que después de varios ensayos permitieron obtener los resultados mostrados (para revisión ver 4,5), mediante las siguientes etapas: obtención, transporte, preparación de la muestra, congelamiento, descongelamiento, capacitación in vitro de los espermatozoides, evaluación de la reacción acrosomal y FIV. Para el análisis de los datos se utilizaron las pruebas de X² y la U de Mann-Whitney.

RESULTADOS

Se utilizaron cuatro indicadores de la función espermática después del descongelamiento, que se evaluaron de manera consecutiva: movilidad, supervivencia, capacitación y eficiencia de FIV. La motilidad promedio fue de 50 y 60% para mini y maxipajillas, respectivamente; no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ellas. La supervivencia espermática después de 2.5 h tanto en maxi como en minipajillas fue en promedio de 60%, respectivamente no encontrándose diferencia estadística entre ellas. Comparada con muestra fresca que es de 80%. El promedio de espermatozoides que llevaron a cabo la reacción acrosomal después de 2.5 h de incubación en medio de capacitación fue de 49% en maxipajillas, y de 50% en minipajillas, en tanto que el promedio en muestras frescas fue de 49%. Los promedios se obtuvieron a partir de 10 y 6 muestras de semen, respectivamente no existiendo diferencia estadística entre ellos. Se realizaron 6 ensayos para evaluar la capacidad fertilizante in vitro del semen porcino descongelado. El promedio obtenido en el control (semen fresco) fue de 85%, mientras que con las muestras descongeladas se obtuvo el 68%; encontrándose diferencia estadísticamente significativa entre ellos.



EVALUACION DE LA CAPACIDAD FERTILIZANTE IN VITRO DEL SEMEN PORCINO DESCONGELADO.

Alejandro Córdova *, Yvonne Ducolomb, Irma Jiménez, Eduardo Casas Edmundo Bonilla Y Miguel Betancourt.

* Departamento de Producción Agrícola y Animal, UAM-Xochimilco. Calz. del Hueso 1100 Col. Villa Quietud C.P 04960,Méx., D.F.

DISCUSION .

En bovinos (1) , la técnica de congelamiento de semen ha sido empleada con éxito, principalmente para inseminación artificial. En humanos, ha permitido el uso de semen de individuos con problemas de fertilidad para programas de reproducción asistida por medio de FIV (3). En ambos casos, las técnicas de criopreservación han mostrado ser altamente reproducibles. Sin embargo, en cerdos (2,4,5) los resultados obtenidos después de la criopreservación han sido poco reproducibles, lo que ha llevado a ensayar gran cantidad de variables incluyendo el uso de diversos diluyentes, crioprotectores, recipientes, velocidad de congelamiento, etc. Uno de los trabajos utilizando semen descongelado para FIV en cerdos (3), hace una comparación entre la capacidad fertilizante in vitro de semen descongelado de origen epididimario y eyaculado, encontrando que los porcentajes de ovocitos fertilizados por espermatozoides epididimarios fue de 0 a 40%, mientras que ninguna muestra con semen eyaculado produjo FIV. Lo anterior contrasta ampliamente con nuestros resultados en donde se obtuvo en promedio el 68% , diferencia debida a la técnica empleada por ellos en la que la motilidad después de la capacitación se encontraba muy baja (0-20%). Por otro lado, los espermatozoides de origen epididimario mantuvieron la motilidad alrededor de 50% hasta el momento de la fertilización. En nuestro estudio con espermatozoides eyaculados el promedio de motilidad aumenta de 50% al momento de la descongelación, hasta el 60% después de 2.5 h, lo cual puede ayudar a obtener índices más altos de FIV. Los resultados del presente trabajo muestran que los espermatozoides almacenados en congelación en nitrógeno líquido no pierden su capacidad fertilizante. En los diferentes ensayos realizados ((motilidad , capacitación, reacción acrosomal y FIV) no se observó variabilidad considerable entre las muestras utilizadas, lo cual sugiere que la técnica de congelamiento descongelamiento empleada es altamente reproducible. Esta baja variabilidad puede reportar grandes beneficios al utilizar semen porcino congelado, ya que se ha observado que en el caso de semen fresco se presenta una variabilidad muy amplia entre eyaculados de cerdos distintos, o aún entre los eyaculados de el mismo cerdo (4,5). El empleo de muestras de semen porcino congelado, y a futuro de ovocitos crioconservados, puede conducir a un mejor empleo de la técnica de FIV en cerdos y resultar muy útil en el estudio del fenómeno de la fertilización en mamíferos.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Polge, C.; Smith, A.U.; Parkes, A.S. 1949. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperature, Nature, 164:666.
- 2.- Wilmut, I y Polge, C. 1977. The low temperature preservation of boar spermatozoa. I- The motility and morphology of boar spermatozoa frozen and thawed in the presence of permeating protective agents. Criobiology 14:471-478.
- 3.- Nagai, T. ; Takahashi, T.; Masuda, H.; y Hanada, A. 1988. In vitro fertilization of pig oocytes by frozen boar spermatozoa. J.Reprod. Fert. 84: 585-591.
- 4.-Johnson, L.A. y Rath, D. 1991. Boar semen preservation II. Paul Parey Scientific Pub., Berlin.
- 5.- Bwanga, C. O. 1990 Cryopreservation of boar semen. Faculty of Veterinary Medicine. Uppsala, Sweden