

EFFECTO SOBRE LA VIABILIDAD Y LA INTEGRIDAD DE ESPERMATOZOIDES PORCINOS CONGELADOS EN DILUYENTES CON BAJA CONCENTRACION DE GLICEROL ADICIONADOS CON TREHALOSA Y DESCONGELADOS A 2 DIFERENTES TEMPERATURAS

Gutiérrez-Pérez O^{a*}, Juárez M ML^b, Uribe C S^c, Martínez R R^d y Trujillo O ME^a.

^a Departamento de Producción Animal: Cerdos FMVZ-UNAM ^b Departamento de Morfología FMVZ-UNAM ^c Instituto de Fisiología UNAM, Ciudad Universitaria Coyoacan, México DF. ^d Centro de Enseñanza, CEIEPP-FMVZ UNAM, Jilotepec, Estado de México.

Correspondencia con el autor: koala6360816@yahoo.com.mx

INTRODUCCION

En los diluyentes de congelación diseñados para la especie porcina el éxito del glicerol como agente crioprotector ha tenido solo un éxito relativo, ya que existe una disminución en la fertilidad asociada a su toxicidad (1). Los mejores resultados se han obtenido con niveles cercanos al 4%, lo que no evita su efecto citotóxico (2). La trehalosa es un disacárido que ha demostrado su capacidad para estabilizar proteínas y membranas biológicas durante los procesos de criopreservación y ha sido incluida con éxito en diluyentes para congelación de semen de pequeños rumiantes (3,4), el efecto de su inclusión en criodiluyentes para cerdos no ha sido reportado. Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto crioprotector conferido por la trehalosa en combinación con una concentración baja de glicerol, sobre la motilidad (M), viabilidad (Vb) e integridad acrosomal (AI), de espermatozoides porcinos, además de valorar si la temperatura de descongelación tiene algún efecto sobre estas observaciones.

MATERIALES Y METODOS

Muestras de 10 eyaculados de 4 diferentes sementales fueron congelados en pajillas de 0.5 ml con el diluyente para congelación propuesto por Westendorf et al., 1975, a base de yema de huevo (16%), glicerol (4%) y dextrosa (230.8 mM) diluidos en agua, los cuales sirvieron como muestra control (G4); el mismo número de muestras se congeló en el diluyente anterior pero con dos modificaciones, en el primero se redujo la concentración de glicerol al 1% (T1) y en el segundo se redujo hasta el 0.5% (T0.5); en ambos se adicionó 250 mM de trehalosa y se suprimió la dextrosa. Al descongelado se valoró M por observación directa al microscopio óptico, Vb con la tinción de eosina nigrosina (5) y AI con la tinción de Coomassie (6). Dos pajillas de cada tratamiento fueron descongelados a 37°C por 30 seg. y/o a 56°C por 12 seg. Los diferentes tratamientos se analizaron por medio de Ji cuadrada.

RESULTADOS

Al descongelado T1 y T0.5 demostraron mejores motilidades a la temperatura de 37°C (P=0.002). El diluyente G4 presentó mejor motilidad (P= .002) al descongelar a 56°C (Tabla 1)

Al comparar el efecto crioprotector entre tratamientos T1 presentó mejor M (P=0.002) que T0.5 (15.8 vs 7.3,

P<0.05), mayor Vb (54.4 vs 50.5; P<0.002), pero menor AI (73.8 vs 78.3; P=0.002).

	G4	T1	T 0.5
56°C	21.3±9.7 ^a	14.4±8.7 ^a	6.9±4.5 ^a
37°C	17.2±9.04 ^b	15.8±9.6 ^b	7.3±6.2 ^b

^a Literales diferentes por columna indican dif. Significativa (P=0.002)

	G4	T1	T 0.5
M	21.3±3.07 ^a	15.8±3.07 ^b	7.3±1.98 ^c
Vb	52.3±7.14 ^a	54.4±8.66 ^b	50.5±7.21 ^c
AI	42.2±6.1 ^a	73.8±9.8 ^b	78.3±10.3 ^c

^a Literales diferentes por fila indican dif. Significativa (P=0.002)

DISCUSION

En este estudio la temperatura de descongelación con mejores resultados para mantener la motilidad en espermatozoides criopreservados con trehalosa fue la de 37°, esto se explica por las características fisicoquímicas de este disacárido. A pesar de que ninguno de los diluyentes adicionados con trehalosa igualó la motilidad del diluyente control, la adición de trehalosa 250mM, mejoró significativamente (P=0.002) la integridad acrosomal brindando una mayor protección sobre esta estructura (Tabla 2), una disminución en el porcentaje de glicerol se ve reflejada en una mayor integridad (42.2 en control vs. 73.8 en T1 y 78.3 en T0.5), esto se debe a que la trehalosa forma un recubrimiento que interacciona estabilizando puentes de hidrogeno y evitando la deshidratación de la membrana. Por su parte el resultado en viabilidad refleja poca relación con la motilidad, al respecto varios autores sostienen que pese a que la motilidad es la prueba de fertilidad más utilizada por su rapidez y facilidad, no se ha encontrado una buena correlación entre motilidad y fertilidad (7,8), además de que no es capaz de indicar el estado de las membranas y su funcionalidad.

Bibliografía

1. Jones 1996, Journal of Rep Fert 106; 321-327
2. Johns 2000, Animal Rep Science 62;143-172
3. Mohamed et al. 2004 Theriogenology 62; 809-818
4. Aisen et al. 2005, Cryobiology 50; 239-249
5. Bamba K. 1988, Theriogenology 29;1245-1251
6. Larson JL and Miller DJ 1999, Mol Rep and Dev 52: 445-449
7. Selles et al., 2003, Reprod Domest Anim 38:66-72
8. Quintero et al., 2004, Theriogenology 61; 673-690

