

# EFECTO DEL ENFRIADO LENTO PRECONGELACION HASTA -5 C SOBRE LA INTEGRIDAD Y FUNCIONALIDAD DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA DEL ESPERMATOZOIDE PORCINO.

\*Flores, HF<sup>1</sup>., Juárez, L<sup>2</sup>., Valencia J.<sup>3</sup>, Meza LR<sup>4</sup> y Medrano A<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Genética y Bioestadística, FMVZ, UNAM; <sup>2</sup>Departamento de Morfología, FMVZ, UNAM; <sup>3</sup>Departamento de Reproducción FMVZ, UNAM; <sup>4</sup>Práctica privada, <sup>5</sup>Departamento de Ciencias Pecuarias, FES-Cuautitlán, UNAM;

## INTRODUCCIÓN

El enfriado del semen durante el proceso de congelado-descongelado produce ciertos cambios estructurales y funcionales en la membrana plasmática del espermatozoide que se han denominado “cambios similares a la capacitación”, los cuales, pueden reducir la capacidad fertilizante del espermatozoide dentro del aparato reproductor de la hembra. En otras especies (ovinos y caprinos) se ha observado un efecto benéfico al utilizar un enfriado lento del semen hasta temperaturas cercanas a 0°C sobre la criosupervivencia y el estado de capacitación espermática, siendo el objetivo de este trabajo probar que el enfriado lento hasta -5°C puede mejorar la supervivencia al descongelado de los espermatozoides porcinos y reducir la ocurrencia del fenómeno de capacitación prematura.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 33 eyaculados provenientes de 5 verracos colectados por el método manual; las muestras de semen se diluyeron en el diluyente BF5 con un porcentaje final de glicerol de 1%. Los tratamientos fueron: 1) enfriado precongelación a +5°C, 2) a 0°C y 3) hasta -5°C. Cada muestra de semen se evaluó y procesó en el laboratorio a temperatura de cuarto (22°C). El semen diluido se sometió a un enfriado en un sistema de recipientes con solución salina y hielo salino hipertónico (7.85%) dentro de un refrigerador hasta alcanzar la temperatura de -5°C. Cuando las pajillas alcanzaron la temperatura blanco de cada tratamiento se retiraron del refrigerador y fueron congeladas en nitrógeno líquido para su almacenamiento. Se evaluó al descongelado: motilidad progresiva en BTS (solución descongeladora de Beltsville); membrana plasmática intacta mediante la tinción de Eosina-Nigrosina, la integridad acrosomal se evaluó por medio de microscopia de contraste de fase y la evaluación del estado de capacitación de los espermatozoides se realizó por medio de la prueba de la Clortetraciclina (CTC) y microscopia de fluorescencia.

## RESULTADOS

El porcentaje de espermatozoides motiles del tratamiento de enfriado a -5°C (36.9%) fue mayor ( $p<0.05$ ) que el tratamiento de +5°C (34.7%). No existió diferencia en cuanto al porcentaje de espermatozoides con membrana intacta. En cuanto al porcentaje de espermatozoides con acrosoma normal, se observó que el tratamiento enfriado a -5°C tuvo una mejor respuesta (77.9%) que los tratamientos de enfriado a +5°C (74.4%) y 0°C (75.1%), y esta diferencia fue significativa ( $p<0.05$ ). En cuanto al

porcentaje de espermatozoides con capacitación prematura (patrones B y AR, de la prueba de CTC), el tratamiento enfriado a -5°C mostró la menor proporción de éstos (57.5%) y fue diferente ( $p<0.05$ ) al obtenido por los tratamientos de enfriado a +5°C (61.9%) y 0°C (63.8%).

Cuadro 1. Efecto del tratamiento de enfriado precongelación sobre las variables del semen evaluadas al descongelado.

TX	Motilidad (%)	Viabilidad (%)	Acrosoma intacto (%)	Espermatozoides capacitados (%)
+5°C	34.7 ± 0.6 <sup>ab</sup>	57.5 ± 1.4 <sup>a</sup>	74.4 ± 0.7 <sup>a</sup>	61.9 ± 1.29 <sup>a</sup>
0°C	35.4 ± 0.6 <sup>bc</sup>	57.9 ± 1.4 <sup>a</sup>	75.1 ± 0.7 <sup>a</sup>	63.8 ± 1.29 <sup>a</sup>
-5°C	36.9 ± 0.6 <sup>c</sup>	61.3 ± 1.4 <sup>a</sup>	77.9 ± 0.7 <sup>b</sup>	57.6 ± 1.29 <sup>b</sup>

a,b,c Valores con literales distintas dentro de las columnas son diferentes ( $P<0.05$ )

Valores expresados como medias de mínimos cuadrados ± e.e. de la media.

## DISCUSIÓN

En investigaciones previas realizadas en caprinos y ovinos utilizando un enfriado lento a temperaturas cercanas a 0°C se logró disminuir el daño en la viabilidad del espermatozoide previo a su congelación; lo anterior, aunado a los presentes resultados sugieren que éste efecto benéfico se debe a que al disminuir la temperatura de manera lenta antes de la formación de hielo, permitiría que la organización tridimensional de la membrana plasmática se vea menos afectada durante la transición de fases que se da en éste periodo, permitiendo un mejor reacomodo de la estructura fosfolípídica de la membrana plasmática del espermatozoide. Se concluye que el enfriado precongelación a -5°C mejoró significativamente la criosupervivencia de los espermatozoides y redujo la incidencia del estado de capacitación prematura al descongelado en comparación con el tratamiento control de enfriado a +5°C.

## REFERENCIAS

- 1.-Medrano, A., Cabrera, F., González, F., Batista, M., Calero, P., Quesada, E., Gracia, A., 2001. *Cryobiology* 43: 365-366.
- 2.-Ríos, E., López, S., Palacios, P., Medrano, A. 2004. *Proceedings of the 15<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction*, Porto Seguro, BA-Brazil, vol. 2, 480.
- 3.-Watson, P.F. 1995. *Reprod. Fertil. Dev.* 7: 871-879.

**Agradecimientos:** Flores GH Becario del CONACYT