

## NOTABREVE

# INTEGRIDAD DE MEMBRANA Y CROMATINA ESPERMÁTICA EN CAPRINOS CON Y SIN BIPARTICIÓN ESCROTAL

## INTEGRITY OF MEMBRANE AND SPERM CHROMATIN IN BUCKS WITH AND WITHOUT SCROTAL BIPARTITION

Salviano, M.B.<sup>1\*</sup>, Souza, J.A.T.<sup>2A</sup>, Vidigal, K.F.<sup>2B</sup>, Cavalcante, T.V.<sup>3A</sup>, Sarria-Perea, J.A.<sup>1</sup> y Lopes, F.B.<sup>3B</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista (UNESP-Jaboticabal). Brasil. \*mbsalviano@hotmail.com

<sup>2</sup>Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária. Universidade Federal do Piauí. Brasil. <sup>A</sup>adalmir@ufpi.br; <sup>B</sup>kamillavidigal@hotmail.com

<sup>3</sup>Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária. Universidade Federal do Tocantins. <sup>A</sup>taniam@uft.edu.br; <sup>B</sup>camult@gmail.com

### PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Membrana plasmática. Semen.

### ADDITIONAL KEYWORDS

Plasmatic membrane. Semen.

### RESUMEN

Se cree que el escroto bipartido de caprinos de regiones áridas y semiáridas mejora la calidad del semen al contribuir a la regulación térmica intratesticular. Se evaluó la calidad del semen y de los espermatozoides de cuatro machos cabríos con escroto entero y tres con escroto bipartido, por medio de análisis convencionales, membrana plasmática y cromatina de los espermatozoides. Los espermatozoides de animales con escroto bipartido presentan mejor calidad física y morfológica, lo cual sugiere mejor adaptación a climas áridos y semi-áridos.

### SUMMARY

Some bucks from arid and semi-arid regions have scrotal bipartition. It has been speculated that this feature improves semen quality by the regulation of intratesticular temperature. This work evaluated the quality of semen and spermatozoa of four bucks without, and three with scrotum bipartition, through conventional analyses, hypo-osmotic swelling test and acridine orange. Results shows better physical and morphological characteristics in addition better quality of plasma membrane for animals with scrotal bipartition, which suggests better adaptation to arid and semiarid regions in these animals.

### INTRODUCCIÓN

En regiones cálidas, algunos machos cabríos tienen diferentes grados de bipartición escrotal, llegando incluso casi a presentar sacos individuales para cada testículo, lo que al aumentar la superficie favorece la termorregulación. Aunque estudios *in vitro* sugieren mejor calidad espermática en machos cabríos con bipartición escrotal (Nunes *et al.*, 1983), esto no ha sido confirmado en la fertilización *in vivo* (Feliciano-Silva *et al.*, 1986). Sin embargo, los caracteres convencionales no predicen cómo la manipulación y el medio ambiente afectan la membrana plasmática y la cromatina del espermatozoide ni cómo repercute en su habilidad fertilizante para lo que los análisis ultraestructurales del espermatozoide son más indicados. Este trabajo pretende comparar, mediante la integridad de membrana y cromatina, la calidad del semen y espermatozoides de ambos tipos de caprinos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 7 reproductores caprinos sin raza definida, de 10 meses a 3 años, 4

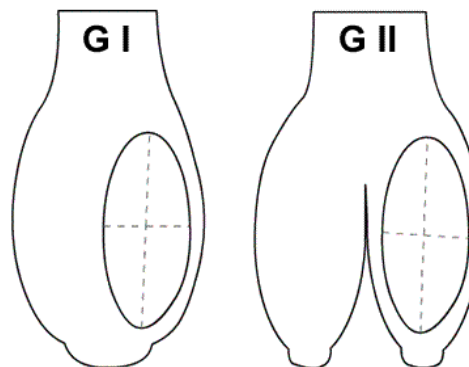
Recibido: 6-8-09. Aceptado: 22-11-09.

Arch. Zootec. 60 (232): 1319-1322. 2011.

animales sin bipartición escrotal (GI) y 3 con bipartición por encima del 50% de la longitud testicular (GII) (**figura 1**). La alimentación fue manejada en potreros de pastos nativos, suplementando con 1,3% de Ca, 2,5% de extracto etéreo, 0,3% de P, 10% de fibra, 12% de minerales, 16% de proteína, 12% de humedad y 70% de NDT en la proporción de 1% del peso vivo por día. Se ofreció agua y sal mineral (FRI-Phos Ovicapri®) *ad libitum*.

Se realizaron 56 colectas semanales (8 por animal) de semen con vagina artificial, entre enero y febrero de 2007. Según CBRA (1998), se evaluaron: volumen, motilidad en masa, motilidad individual y vigor y (con microscopio de contraste de fase en preparación húmeda) concentración y defectos espermáticos (Blom, 1973).

De cada eyaculado se retiró y fijó una alícuota (1:200), posteriormente, este se diluyó en medio TRIS-Yema en proporción de 1:9 (semen: diluyente) para congelación automática (TK-3000®). En 200 espermatozoides se evaluaron la membrana plasmática (concentración osmótica de 125mOsm/l, Fonseca *et al.*, 2005) y la cromatina espermática (naranja de acridina, Tejada *et al.*, 1984). Para verificar la normalidad de los datos se usaron las pruebas de Shapiro-Wilk de análisis de residuos seguida de la prueba de Kruskal-Wallis y para la comparación entre grupos se usó la prueba de Dunn.



**Figura 1.** Esquema de la conformación escrotal de los grupos experimentales. (Scrotal conformation of animals).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este trabajo se realizó con predominio de la estación lluviosa, lo que igualó la calidad seminal de los grupos con lo descrito por Vieira *et al.* (2008).

No se encontraron diferencias al comparar aleatoriamente ( $p > 0,05$ ), indicando ausencia de efecto del animal. A pesar de la amplia variación de edad en los grupos ( $21 \pm 10$  meses para GI y  $19 \pm 5$  meses para GII), la calidad seminal estuvo entre los patrones normales de la especie (Salviano y Souza, 2008), de acuerdo con Nunes *et al.* (1983), quienes afirman que aunque los machos caprinos de regiones tropicales manifiestan libido con 10 a 12 meses, ya producen semen

**Tabla I.** Promedios  $\pm$ DE para características físicas de eyaculados de caprinos sin (GI) y con (GII) escroto bipartido. (Means  $\pm$ SD for physic features of ejaculates from bucks without (GI) and with (GII) scrotum bipartition).

	Volumen (ml)	Motilidad en masa (0-5)	Motilidad (%)	Vigor (0-5)	Concentración ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	MPD (%)	VPD (0-5)
GI (n=31)	0,66 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>	3,10 $\pm$ 0,65 <sup>a</sup>	77,42 $\pm$ 5,14 <sup>b</sup>	3,13 $\pm$ 0,62 <sup>a</sup>	2,37 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>	29,52 $\pm$ 7,78 <sup>a</sup>	2,58 $\pm$ 0,62 <sup>a</sup>
GII (n=25)	0,53 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	3,24 $\pm$ 0,60 <sup>a</sup>	84,20 $\pm$ 7,02 <sup>a</sup>	3,23 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>	2,13 $\pm$ 0,71 <sup>a</sup>	32,80 $\pm$ 7,78 <sup>a</sup>	2,97 $\pm$ 0,35 <sup>b</sup>

MPD= motilidad posdescongelación, VPD= vigor posdescongelación.

<sup>ab</sup>Dentro de la misma columna letras diferentes, indican diferencias ( $p < 0,05$ ) mediante la prueba de Dunn.

MEMBRANA Y CROMATINA DE ESPERMATOZOIDES CAPRINOS

**Tabla II.** Promedios  $\pm$ DE de las características morfológicas de los eyaculados de caprinos sin (GI) y con (GII) escroto bipartido. (Means  $\pm$ SD of morphologic features of ejaculates from bucks without (GI) and with (GII) scrotum bipartition).

	mayores	totales	Defectos (%)			acrosoma
			cola	PI	cabeza	
GI (n=31)	4,21 $\pm$ 1,78 <sup>b</sup>	22,83 $\pm$ 6,86 <sup>b</sup>	12,18 $\pm$ 5,56 <sup>a</sup>	3,86 $\pm$ 2,98 <sup>a</sup>	4,04 $\pm$ 2,39 <sup>a</sup>	0,26 $\pm$ 0,42 <sup>a</sup>
GII (n=25)	3,01 $\pm$ 1,08 <sup>a</sup>	18,72 $\pm$ 3,64 <sup>a</sup>	12,31 $\pm$ 2,65 <sup>a</sup>	4,13 $\pm$ 2,57 <sup>a</sup>	3,29 $\pm$ 2,41 <sup>a</sup>	0,12 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>

PI= pieza intermediaria. Valores dentro de la misma característica seguidos de letras diferentes, son estadísticamente diferentes mediante la prueba de Dunn ( $p < 0,05$ ).

de buena calidad a partir del 8<sup>o</sup> mes.

La **tabla I** muestra las medias de las características físicas de los eyaculados. Hubo mejor motilidad individual inmediata y vigor posdescongelación en los animales del GII ( $p < 0,05$ ), lo que corrobora los resultados de Nunes *et al.* (1983). Sin embargo, no hubo diferencias entre las concentraciones espermáticas del GI y GII, ( $p > 0,05$ ), lo cual difiere de lo visto por Feliciano Silva *et al.* (1986) y Vieira *et al.* (2008).

Para las morfologías espermáticas (**tabla II**) los animales del GII presentaron menor cantidad de defectos mayores y totales (suma de defectos mayores y menores) ( $p < 0,05$ ), lo que concuerda con Nunes *et al.* (1983) pero difiere parcialmente de Vieira *et al.* (2008), en donde las patologías de la cabeza del espermatozoide variaron.

Los resultados indican que la bipartición escrotal ofrece mejores condiciones para la

espermatogénesis, sin embargo, los análisis de ultraestructura espermática no fueron tan contundentes. Como se aprecia en la **tabla III**, el grupo GII presentó mayor integridad de la membrana, posiblemente debido a una mejor distribución de nutrientes en los testículos de los animales con escroto bipartido (Almeida *et al.*, 2008) y la integridad de la cromatina fue muy alta en los grupos y no hubo diferencias, lo que sugiere una óptima fertilidad para ambos. Los resultados se explicarían porque la cromatina consigue resistir la criopreservación o porque la técnica es poco eficiente debido a inestabilidad del colorante (Everson y Wixon, 2006).

Se concluye que caprinos con escroto bipartido presentan esperma con mayor motilidad individual y vigor posdescongelación, mejor integridad de membrana y menor porcentaje de anomalías.

**Tabla III.** Promedios  $\pm$ DE de evaluación de reactividad de la membrana plasmática e integridad de la cromatina espermática en espermatozoides de caprinos sin (GI) y con (GII) escroto bipartido. (Means  $\pm$ SD of evaluation of plasmatic membrane reactivity and sperm chromatin integrity in Buck sperms without (GI) and with (GII) scrotum bipartition).

	Reactividad de la membrana plasmática (%)			Cromatina (%)	
	ausencia	leve	fuerte	condensada	descondensada
GI (n=31)	33,38 $\pm$ 8,63 <sup>a</sup>	44,46 $\pm$ 6,55 <sup>a</sup>	22,16 $\pm$ 11,51 <sup>b</sup>	99,53 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>	0,47 $\pm$ 0,49 <sup>a</sup>
GII (n=25)	29,81 $\pm$ 6,97 <sup>a</sup>	43,03 $\pm$ 7,00 <sup>a</sup>	27,15 $\pm$ 7,71 <sup>a</sup>	99,67 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>	0,33 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>

Valores dentro de la misma característica seguidos de letras diferentes, son estadísticamente diferentes mediante la prueba de Dunn ( $p < 0,05$ ).

BIBLIOGRAFÍA

- Almeida, M.M., Assis Neto, A.C., Penno, A.K., Conde Júnior, A.M., Menezes, D.J.A., Pereira, G.R., Azevêdo, L.M. and Carvalho, M.A.M. 2008. Testicular arteries systematization based on different levels of scrotal configuration in caprines. *Ciê. Rural*, 38: 1308-1312.
- Blom, E. 1973. The ultrastructure of some characteristics sperm defects and proposal of a new classification of the bull spermogram. *North. Vet. Med.*, 25: 391.
- CBRA. 1998. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2ª ed. Belo Horizonte.
- Evenson, D.P. and Wixon, R. 2006. Clinical aspects of sperm DNA fragmentation detection and male infertility. *Theriogenology*, 65: 979-991.
- Feliciano Silva, A.E.D., Nunes, J.F. e Melo, F.A. 1986. Influência da morfologia escrotal nas características do sêmen e seus efeitos na fertilidade de caprinos. *A Hora Veterinária*, 5: 29: 66-69.
- Fonseca, J.F., Torres, C.A.A., Maffili, V.V., Borges, A.M., Santos, A.D.F., Rodrigues, M.T. and Oliveira, R.F.M. 2005. The hypoosmotic swelling test in fresh goat spermatozoa. *Anim. Reprod.*, 2: 139-144.
- Nunes, J.F., Riera, G.S., Silva, A.E.F.D., Ponce de Leon, F.A. y Lima, F.A.M. 1983. Características espermáticas de caprinos Moxotó de acordo com a morfologia escrotal. Sobral: EMBRAPA/CNPCAPRINOS. Circular técnica, 6. 11 pp.
- Salviano, M.B. e Souza J.A.T. 2008. Avaliação andrológica e tecnologia do sêmen caprino. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 32: 159-167.
- Tejada, R.I., Mitchell, J.C., Norman, A., Marik, J.J. and Friedman, S. 1984. A test for practical evaluation of male fertility by acridine orange (AO) fluorescence. *Fert. Steril.*, 42: 87-91.
- Vieira, R.J., Cardoso, F.T.S., Azevedo, L.M., Cunha, L.A.L. e Salviano, M.B. 2008. Influência da morfologia escrotal e da época do ano na qualidade do sêmen de caprinos criados no Estado do Piauí. *Rev. Bras. Ciênc. Agrár.*, 3: 376-380.